

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Microbiología I



**PREVENCIÓN DE LA BACTERIEMIA RELACIONADA
CON EL CATÉTER EN PACIENTES SOMETIDOS A
HEMODIÁLISIS MEDIANTE EL ESTUDIO DE LA
COLONIZACIÓN ENDOLUMINAL DEL CATÉTER**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR**

Almudena Rodríguez Aranda

Bajo la dirección del doctor

Fernando Chaves Sánchez

Madrid, 2013

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

**Facultad de Medicina
Departamento de Microbiología I**



TESIS DOCTORAL

**PREVENCIÓN DE LA BACTERIEMIA
RELACIONADA CON EL CATÉTER EN PACIENTES
SOMETIDOS A HEMODIÁLISIS MEDIANTE EL
ESTUDIO DE LA COLONIZACIÓN ENDOLUMINAL
DEL CATÉTER**

ALMUDENA RODRÍGUEZ ARANDA

2013

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

**Facultad de Medicina
Departamento de Microbiología I**



PREVENCIÓN DE LA BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER EN PACIENTES SOMETIDOS A HEMODIÁLISIS MEDIANTE EL ESTUDIO DE LA COLONIZACIÓN ENDOLUMINAL DEL CATÉTER

Memoria redactada para optar al grado de doctor en Medicina, por la Universidad
Complutense de Madrid por Almudena Rodríguez Aranda

VºBº:

El Director del trabajo

Dr. Fernando Chaves Sánchez

Madrid 2013

A mis padres y hermana

A Paula y Alberto

AGRADECIMIENTOS

Muchas personas han contribuido para que este trabajo se convirtiera en una realidad.

Al Dr. Fernando Chaves le quiero agradecer su continua ayuda y dedicación, tanto en la elaboración de este trabajo como en mi periodo de formación como especialista. Siempre has sido un ejemplo de constancia y de estímulo, como profesional y como persona.

A todo el servicio de Microbiología del Hospital 12 de Octubre. Al Dr. Otero, a la Dra. Sanz, a la Dra. Orellana. A mis compañeras de residencia. A Mercedes Murcia, Antonia Martín, Mar Aguilera, Esther Zábala y Ana Pérez, siempre dispuestas a enseñarme y ayudarme.

A la Unidad de Hemodiálisis del Servicio de Nefrología del Hospital 12 de Octubre y de San Luciano. En especial al Dr. Alcázar, al Dr. García y al Dr. Morales. Gracias por vuestra colaboración y dedicación.

A mis amigos, en especial a Laura López, siempre has sido un apoyo, siempre has sido una amiga. A Fernando Almansa, siempre has conseguido animarme y hacerme sonreír, incluso en los momentos más difíciles.

Al Centro Militar de Farmacia de la Defensa. A Sonia González y Pilar Puente, me habéis acompañado en este último tramo y espero que durante muchos años más. Sois unas excelentes jefas y compañeras.

No quiero dejar de agradecer a mis padres su apoyo incondicional, sin ellos jamás hubiera podido haber hecho realidad mi vocación, la microbiología, sin ellos jamás hubiera podido alcanzar mi sueño, servir a mi país. Os debo todo, mi vida, lo que soy, lo que tengo. Os quiero.

A mi hija, Paula, eres mi tesoro. A mi marido, por tu paciencia. A mi hermana, por tu apoyo, por tu ayuda, por tu cariño. A mi familia.

Esta tesis ha sido financiada en parte por el fondo de investigaciones sanitarias del Instituto Carlos III (PI07/90239) y por la fundación Mutua Madrileña (FMM: 2011/0064).

ÍNDICES

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Insuficiencia renal.....	3
1.1.1. Tratamiento renal sustitutivo alternativo a la insuficiencia renal crónica terminal.....	4
1.2. Accesos vasculares para hemodiálisis.....	6
1.2.1. Catéter venoso central.....	8
1.2.1.1. Tipos de catéteres venosos centrales usados en hemodiálisis.....	10
1.3. Complicaciones asociadas al empleo de catéteres venosos centrales.....	13
1.3.1 Infección relacionada con el empleo del catéter venoso central en la población sometida a hemodiálisis.....	16
1.3.1.1. Clasificación y definiciones de las infecciones relacionadas con el catéter.....	17
1.4. Bacteriemia relacionada con el catéter en la población en hemodiálisis.....	20
1.4.1. Factores de riesgo en el desarrollo de la bacteriemia relacionada con el catéter en la población sometida a hemodiálisis.....	22
1.4.2. Etiología la bacteriemia relacionada con el catéter en la población sometida a hemodiálisis.....	25
1.4.3. Patogenia en el desarrollo de la bacteriemia relacionada con el catéter en la población sometida a hemodiálisis.....	29
1.4.4. Colonización de los catéteres venosos centrales.....	31
1.5. Formación de <i>biocapas</i> en los catéteres.....	32
1.5.1. <i>Biocapas</i> en <i>Staphylococcus epidermidis</i>	35
1.5.1.1. Posibles marcadores de invasividad y resistencia antimicrobiana en <i>Staphylococcus epidermidis</i>	38

1.6. Diagnóstico microbiológico de la infección asociada a catéter.....	41
1.6.1. Procedimientos diagnósticos sobre catéteres retirados.....	42
1.6.1.1. Cultivo cualitativo de la punta del catéter.....	42
1.6.1.2. Cultivo semicuantitativo de la punta del catéter.....	43
1.6.1.3. Cultivo cuantitativo de la punta del catéter.....	43
1.6.1.4. Técnicas de diagnóstico rápido. Tinción sobre catéteres retirados.....	45
1.6.2. Procedimientos de diagnóstico microbiológico manteniendo el catéter.....	46
1.6.2.1. Cultivos superficiales semicuantitativos.....	46
1.6.2.2. Cultivos y tinciones de sangre aspirada a través del catéter.....	48
1.6.2.2.1. Tinción de la capa leucocitaria de sangre extraída a través del catéter...	48
1.6.2.2.2. Cultivos cuantitativos de sangre aspirada a través del catéter.....	49
1.6.2.2.3. Cultivos cuantitativos simultáneos.....	49
1.6.2.2.3.1. Cultivos simultáneos basados en el tiempo diferencial de positividad...	50
1.6.2.2.4. Cepillado endoluminal.....	51
1.7. Manejo y tratamiento de las infecciones asociadas a catéter en pacientes en hemodiálisis.....	52
1.7.1. Antibioterapia en el tratamiento de infecciones asociadas a catéter.....	54
1.7.2. Fracaso terapéutico.....	58
1.8. Prevención de la infección relacionada con el catéter en pacientes en hemodiálisis.....	59
1.8.1. Prevención de la infección relacionada con el catéter mediante soluciones de sellado con antimicrobianos o antisépticos.....	64
1.9. Prevención del desarrollo de resistencias.....	67
2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	69
2.1. Justificación del estudio.....	71

2.2. Hipótesis.....	72
2.3. Objetivos.....	73
2.3.1. Objetivo principal.....	73
2.3.2. Objetivos secundarios.....	73
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	75
3.1 Características generales del estudio.....	77
3.1.1 Diseño del estudio.....	77
3.1.2 Duración del estudio.....	77
3.1.3. Lugar del estudio.....	78
3.2. Población de estudio.....	78
3.2.1. Pacientes en hemodiálisis portadores de catéter venoso central tunelizado.....	79
3.2.2. Población adulta sana extrahospitalaria.....	83
3.3. Catéteres venosos centrales utilizados en hemodiálisis.....	84
3.3.1. Características de los catéteres venosos centrales.....	84
3.4. Muestras y estudio microbiológico.....	86
3.4.1. Muestras de monitorización de la colonización endoluminal del catéter.....	86
3.4.1.1. Líquido de sellado del catéter.....	87
3.4.1.2. Mezcla de líquido de sellado y sangre extraída a través del catéter.....	88
3.4.2. Muestras de diagnóstico de la bacteriemia relacionada con el catéter.....	89
3.4.2.1. Muestras de diagnóstico microbiológico de la bacteriemia relacionada con el catéter.....	89
3.4.2.2. Muestras en caso de sospecha clínica de bacteriemia relacionada con el catéter.....	90

3.4.2.3. Muestras en caso de retirada del catéter por bacteriemia relacionada con el catéter.....	91
3.4.3. Estudio de los <i>Staphylococcus epidermidis</i> en los vestíbulos nasales en la población sana extrahospitalaria.....	92
3.5. Identificación y sensibilidad antibiótica de los aislamientos.....	93
3.6. Tipificación molecular de microorganismos.....	95
3.6.1. Electroforesis en campo pulsante.....	96
3.6.1.1. Criterios para la interpretación de resultados.....	101
3.6.1.2. Indicaciones e inconvenientes de la técnica.....	103
3.6.2. Aislamientos seleccionados.....	104
3.7. Detección de los genes <i>icaA</i> , <i>icaD</i> , secuencia de inserción IS256 y producción de <i>biocapa</i> en las cepas de <i>Staphylococcus epidermidis</i>	105
3.7.1. Detección de los genes <i>icaA</i> , <i>icaD</i> y secuencia de inserción IS256.....	106
3.7.2. Caracterización fenotípica de la producción de <i>biocapa</i>	110
3.8. Criterios y definición de variables.....	112
3.9. Análisis estadístico.....	115
4. RESULTADOS.....	119
4.1. Características de la población de pacientes en hemodiálisis incluida en el estudio.....	121
4.2. Bacteriemia relacionada con el catéter en los pacientes en hemodiálisis durante el periodo de estudio.....	126
4.2.1. Incidencia de bacteriemia relacionada con el catéter.....	127
4.2.2. Características demográficas y clínicas de los pacientes que desarrollaron bacteriemia relacionada con el catéter.....	128
4.2.3. Características y manejo clínico de los episodios de bacteriemia relacionada con el catéter.....	131
4.2.4. Relación del tiempo de permanencia y monitorización del catéter con el desarrollo de bacteriemia relacionada con el catéter.....	138

4.2.4.1. Relación del tiempo de permanencia y monitorización del catéter con el desarrollo de bacteriemia relacionada con el catéter en <i>Staphylococcus epidermidis</i>	140
4.2.5. Tiempo transcurrido entre los episodios de bacteriemia relacionada con el catéter.....	141
4.3. Dinámica de colonización endoluminal del catéter venoso central tunelizado.....	142
4.3.1. Resultados generales.....	142
4.3.2. Relación de la colonización endoluminal del catéter y bacteriemia relacionada con el catéter.....	147
4.3.3. Tiempo transcurrido desde la inserción del catéter venoso central hasta la detección de colonización y desarrollo de bacteriemia relacionada con el catéter...	149
4.3.3.1. Tiempo transcurrido desde la inserción del catéter venoso central hasta la detección colonización y desarrollo de bacteriemia relacionada con el catéter en <i>Staphylococcus epidermidis</i>	154
4.3.4. Tiempo transcurrido desde la detección de colonización hasta el desarrollo de bacteriemia relacionada con el catéter.....	155
4.3.5. Tiempo de positividad de las muestras de colonización endoluminal.....	157
4.3.6. Relación entre el tiempo de permanencia del catéter y la proporción de muestras positivas y el tiempo de positividad.....	159
4.3.7. Utilidad de los cultivos de las muestras de colonización endoluminal del catéter venoso central para la predicción de bacteriemia relaciona con el catéter....	163
4.3.7.1 Utilidad de los cultivos de las muestras de vigilancia de la colonización endoluminal del en predicción de bacteriemia relaciona con el catéter por <i>Staphylococcus epidermidis</i>	166
4.3.8. Utilidad del tiempo de positividad en la predicción de bacteriemia relacionada con el catéter en <i>Staphylococcus epidermidis</i>	168
4.4. Estudio microbiológico de las cepas causantes de bacteriemia relaciona con el catéter y de colonización endoluminal del catéter.....	168
4.4.1. Estudio de resistencia antibiótica en las cepas de <i>Staphylococcus epidermidis</i>	170
4.5. Epidemiología molecular de los asilamientos de <i>Staphylococcus epidermidis</i> causantes de bacteriemia relaciona con el catéter y de la colonización endoluminal del catéter.....	175
4.6. Estudio de factores de virulencia en las cepas de <i>Staphylococcus epidermidis</i> ..	178

5. DISCUSIÓN.....	183
5.1. Características de la población y de los catéteres incluidos en el estudio.....	186
5.2. Bacteriemia relacionada con el catéter venoso central tunelizado en pacientes en hemodiálisis.....	192
5.2.1. Muestras clínicas para diagnóstico de la bacteriemia relacionada con el catéter.....	192
5.2.2. Incidencia de bacteriemia relacionada con el catéter durante el estudio.....	194
5.2.3. Etiología de la bacteriemia relacionada con el catéter venoso central tunelizado en la población sometida a hemodiálisis.....	196
5.2.4. Factores de riesgo en el desarrollo de bacteriemia relaciona con el catéter....	199
5.2.5. Manifestaciones clínicas de los episodios de bacteriemia relaciona con el catéter y complicaciones infecciosas.....	202
5.2.6. Tratamiento de la bacteriemia relaciona con el catéter.....	204
5.3. Dinámica de colonización endoluminal del catéter venoso central tunelizado...	207
5.3.1 Muestras clínicas para monitorizar la colonización endoluminal del catéter...	207
5.3.2 Periodicidad de las muestras.....	212
5.3.3. Colonización del catéter venoso central tunelizado.....	213
5.3.4. Tiempo transcurrido desde la inserción hasta la detección de colonización y bacteriemia relacionada con el catéter.....	216
5.3.5. Tiempo transcurrido desde la detección de colonización hasta el desarrollo de bacteriemia relacionada con el catéter	220
5.3.6. Recurrencias de los episodios de colonización y bacteriemia relacionada con el catéter.....	221
5.3.7. Tiempo de positividad de las muestras de colonización endoluminal.....	223
5.3.8. ¿Se colonizan ambas ramas en igual proporción?	224
5.4 Utilidad de la vigilancia de la colonización endoluminal en la prevención de bacteriemia relacionada con el catéter.....	225
5.4.1 Soluciones de sellado antibióticas.....	228

5.5. <i>Staphylococcus epidermidis</i> : un patógeno frecuentemente implicado en la bacteriemia relacionada con el catéter en pacientes en hemodiálisis.....	232
5.5.1. Caracterización genotípica.....	232
5.5.2. Factores implicados en la patogenicidad e invasividad de <i>Staphylococcus epidermidis</i>	233
5.6. Limitaciones del estudio.....	246
5.7. Propuesta de algoritmo de vigilancia de la colonización endoluminal del catéter venoso central tunelizado en pacientes de hemodiálisis.....	248
6. CONCLUSIONES.....	255
7. BIBLIOGRAFÍA.....	261
Anexo I. Resumen en Español.....	315
Anexo II. Resumen en Inglés.....	321
Anexo III. Consentimiento informado.....	327
Anexo IV. Documento de recogida de variables.....	331
Anexo V. Documento recogida de intervenciones.....	335
Anexo VI. Grado de recomendaciones científicas.....	339
Anexo VII. Publicaciones relacionadas con esta tesis.....	343

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Definiciones de las infecciones relacionadas con catéter.....	19
Tabla 2. Factores de riesgo en el desarrollo de BRC en los pacientes sometidos a HD.....	22
Tabla 3. Microorganismos implicados en la bacteriemia relacionada con el catéter en HD según diferentes estudios	28
Tabla 4. Tratamiento antibiótico en la BRC en pacientes en HD.....	57
Tabla 5. Características demográficas y clínicas de los pacientes en HD incluidos en el estudio.....	122
Tabla 6. Comparación de las características demográficas y clínicas de los pacientes incluidos en el estudio según el centro de diálisis.....	124
Tabla 7. Pacientes y numero de episodios de BRC desarrollados y comparados según centro de hemodiálisis.....	127
Tabla 8. Comparación de las características clínicas y demográficas de los pacientes respecto al desarrollo de BRC.....	130
Tabla 9. Descriptivo de los episodios de BRC.....	136
Tabla 10. Tiempos de permanencia y monitorización de los CVCt en el grupo BRC <i>versus</i> No-BRC.....	139
Tabla 11. Tiempos de permanencia y monitorización de los CVCt en el grupo BRC por <i>S. epidermidis</i> <i>versus</i> No-BRC.....	140
Tabla 12. Tiempos transcurridos desde la inserción del CVCt hasta la detección de colonización y días de monitorización del CVCt.....	151
Tabla 13. Tiempos transcurridos desde la inserción del CVCt hasta la detección de colonización significativa en el CVCt	152
Tabla 14. Tiempos transcurridos desde la inserción del CVCt hasta la detección de colonización, colonización significativa y desarrollo de la BRC, y desde detección de colonización significativa hasta desarrollo de BRC.....	153
Tabla 15. Tiempos transcurridos desde la inserción del CVCt hasta la detección colonización, colonización significativa y desarrollo de BRC, y desde detección de colonización significativa hasta desarrollo de BRC por <i>S. epidermidis</i>	155
Tabla 16. Tiempo de crecimiento de las muestras de colonización endoluminal....	158

Tabla 17. Utilidad de los cultivos de las muestras de monitorización de la colonización endoluminal del catéter en la predicción de bacteriemia relacionada con el catéter.....	165
Tabla 18. Utilidad de los cultivos de las muestras de las muestras de vigilancia de la CEC en la predicción de BRC causada por <i>S. epidermidis</i>	167
Tabla 19. Utilidad del tiempo de positividad para predecir BRC por <i>S. epidermidis</i>	168
Tabla 20. Sensibilidad antibiótica de las cepas comunitarias y hospitalarias.....	174
Tabla 21. Formación de <i>biocapa</i> mediante la detección en medio Rojo Congo y genes <i>icaA</i> , <i>icaD</i> , secuencia de inserción IS256 en cepas hospitalarias y comunitarias.....	180
Tabla 22. Asociación entre la formación de <i>biocapa</i> , presencia de los genes <i>icaA</i> , <i>icaD</i> , secuencia de inserción IS256 y la multirresistencia.....	181
Tabla 23. Asociación entre la producción de <i>biocapa</i> y la presencia de los genes <i>icaA</i> , <i>icaD</i> y secuencia de inserción IS256.....	182

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Patogénesis de la bacteriemia relacionada con el catéter.....	30
Figura 2 .Bases moleculares de la adherencia microbiana sobre los materiales protésicos.....	33
Figura 3. CVCT empleado en HD y esquema de su inserción.	84
Figura 4. Curva de disociación de los fragmentos amplificados por PCR.....	108
Figura 5. Gráfico de de la reacción de amplificación de ADN.....	109
Figura 6. Bandas generadas por los genes <i>icaA</i> , <i>icaD</i> y secuencia de inserción IS256.	110
Figura 7. Crecimiento de los aislamientos de <i>S. epidermidis</i> productores y no productores de <i>biocapa</i> en el medio de cultivo Rojo Congo.....	111
Figura 8. Causas que motivaron la finalización del periodo de monitorización de los pacientes.....	125
Figura 9. Esquema del número de pacientes y CVCT que participaron en el estudio, clasificado por su implicación en BRC.....	126
Figura 10. Esquema del número total de pacientes, CVCT que participaron en el estudio, muestras de colonización significativa y episodios de BRC.....	134
Figura 11. Esquema del número de muestras de monitorización de la CEC recogidas durante el estudio, su naturaleza, procedencia y porcentajes de positividad.	145
Figura 12. Etiología de los microorganismos aislados en las muestras de vigilancia de la CEC y porcentaje de positividad.	147
Figura 13. Proporción de muestras de vigilancia de la CEC positivas en grupo BRC por <i>S. epidermidis</i> y No-BRC.	161
Figura 14. Tiempos de crecimiento de las muestras de vigilancia de la CEC en los grupos de BRC por <i>S. epidermidis</i> y No-BRC.....	162
Figura 15 . Porcentaje de resistencia de los aislados de <i>S. epidermidis</i> que dieron lugar a BRC.....	171
Figura 16. Porcentaje de resistencia de los aislados de <i>S. epidermidis</i> que no dieron lugar a BRC	172
Figura 17. Patrón de ECP de los <i>S. epidermidis</i> involucrados en 16 episodios de BRC en 12 pacientes sometidos a HD.....	176

Figura 18. ECP de los aislados de <i>S. epidermidis</i> de las muestras de vigilancia de la CEC y HC aislados en un episodio de BRC de un paciente.....	177
Figura19. Historia natural de la colonización endoluminal del CVCt en <i>S. epidermidis</i> . Días desde la inserción del CVCt en los que se produce de media la colonización del catéter, colonización significativa y BRC.....	219
Figura 20. Diagrama esquemático propuesto de la estrategia de vigilancia de la colonización endoluminal en los pacientes asintomáticos portadores de CVCt en HD y recomendaciones de actuación.....	253

ABREVIATURAS

AAC	Acetiltransferasa
APH	Fosfotransperasa
AV	Acceso vascular
BGN	Bacilo gram negativo
BRC	Bacteriemia relacionada con el catéter.
CEC	Colonización endoluminal del catéter
CMI	Concentración mínima inhibitoria
CVC	Catéter venoso central
CVCt	Catéter venoso central tunelizado
CVCnt	Catéter venoso central no tunelizado
DP	Diálisis peritoneal
ECN	Estafilococo coagulasa negativa
FAV	Fístula arteriovenosa
HC	Hemocultivo
HD	Hemodiálisis
IRCT	Insuficiencia renal crónica terminal
kb	Kilobase
PAI	Polisacárido de adhesión intercelular
PB	Pares de bases
IV	Índice de validez
TRS	Tratamiento renal sustitutivo
UFC	Unidad formadora de colonia
VPN	Valor predictivo negativo
VPP	Valor predictivo positivo

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. INSUFICIENCIA RENAL

La insuficiencia renal crónica es una patología con una elevada prevalencia en los países occidentales y supone un importante problema de salud pública [1]. Se define como un estado patológico en el cual se produce el fracaso global de las funciones renales: función depuradora, reguladora y endocrino metabólica [2]. La variación en el grado de fallo en las funciones renales incluye desde una enfermedad renal con un valor de filtrado glomerular normal (90 ml/min) hasta un fallo renal que necesite la sustitución de la función renal [3]. La manifestación más grave, la insuficiencia renal crónica terminal (IRCT) conlleva un valor de filtración glomerular inferior a 15 ml/min y la consiguiente necesidad de tratamiento sustitutivo de la función renal. La disminución de la función renal ocasiona una retención de productos metabólicos tóxicos, alteración en el volumen corporal, en la concentración de solutos y en el equilibrio ácido-base. Si no se restablece la función renal esta alteración puede conducir a la muerte del paciente.

La necesidad de tratamiento renal sustitutivo (TRS) presenta en la última década, una incidencia y una prevalencia crecientes [4]. Actualmente, en Estados Unidos, aproximadamente 8 millones de personas presentan una enfermedad renal crónica en estado moderado o severo, y otros 450.000 presentan IRCT. Se estima que este número aumentará en el año 2015 hasta un total de 600.000 afectados de IRCT, debido a que sus causas principales residen en trastornos de alta prevalencia como el aumento en la esperanza de vida, la hipertensión arterial, la diabetes, la enfermedad vascular y la obesidad. Este incremento de pacientes con IRCT supondrá un problema sanitario y económico de primer orden [5]. En España, la incidencia de IRCT en los

INTRODUCCIÓN

últimos años ha ido aumentando en progresión lineal y la prevalencia es de casi 1.000 pacientes por 1.000.000 habitantes [6]. El 89% de estos pacientes inician el TRS mediante hemodiálisis (HD) y entre el 5% y el 24% dependiendo de las diferentes comunidades autónomas mediante diálisis peritoneal (DP), según datos publicados por el registro de la Sociedad Española de Nefrología [7]. En el año 2006, se calcula que alrededor de 45.000 personas se sometían a TRS [8, 9]. El número total de pacientes en diálisis en el mundo en 2010 era de dos millones y en DP, de 240.000 [1].

1.1.1. TRATAMIENTO RENAL SUSTITUTIVO ALTERNATIVO A LA INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA TERMINAL

Actualmente el tratamiento sustitutivo de la función renal puede realizarse mediante tres modalidades fundamentales: HD, DP y trasplante renal.

En actualidad, un 48% de los pacientes en TSR en España han sido trasplantados, un 46% acuden a HD y un 6% a DP [8, 9].

La elección del TRS debe ajustarse a las patológicas del paciente, a sus necesidades personales y a las condiciones socio-familiares que le rodean. El trasplante renal ha tenido un espectacular desarrollo, siendo la terapia que proporciona mejores resultados en cuanto a la supervivencia y rehabilitación social [2]. Sin embargo, a causa de la carencia de suficientes órganos para trasplante, el trasplante renal sólo es aplicable a menos del 20% de los pacientes en diálisis, por lo que la mayoría de los pacientes incidentes y prevalentes del TSR deben ser sometidos a diálisis, y deberán elegir entre la HD o la DP domiciliaria [10].

Un proceso de diálisis consiste en separar de un medio líquido las partículas de distinto tamaño utilizando una membrana semipermeable dotada con poros.

INTRODUCCIÓN

Dependiendo de las dimensiones de dichos poros, podrán pasar unas moléculas determinadas, en función de su tamaño molecular, permitiendo el paso de pequeñas moléculas pero impidiendo el paso de moléculas de gran tamaño. Estas membranas están dotadas de poros de tamaño microscópico. La diálisis renal consiste en aplicar el principio general de la diálisis para filtrar la sangre por medio de una membrana semipermeable, enfrentándola a una solución de diálisis, donde la sangre se filtra y se elimina el exceso de líquidos y metabolitos. Este método no es sustitutivo de la función endocrina realizada por el riñón.

La HD ha sido y es en la actualidad la técnica de depuración extracorpórea más empleada [11]. Las relaciones que se van a dar entre las dos soluciones separadas por la membrana semipermeable serán el transporte de solutos y de disolvente. Existen dos tipos de transporte que se van a poder establecer entre dos soluciones separadas por una membrana semipermeable en la técnica citada, el transporte de solutos o transporte difusivo y la ultrafiltración, de tal manera que se van a conseguir mejores resultados en la eliminación de sustancias de desecho tóxicas y exceso de agua. Para poder llevar a cabo la HD es imprescindible que el paciente posea un acceso vascular (AV) permanente que permita la extracción y la readmisión de la sangre del paciente, así como un dializador o riñón artificial que produzca el intercambio de solutos entre la sangre del paciente y el líquido de diálisis a través de una membrana semipermeable biocompatible.

La DP se utiliza como una técnica alternativa a la HD. Al igual que en el caso de la HD, la técnica se basa en el intercambio mediante procesos de difusión y ultrafiltración entre la solución de diálisis y las sustancias tóxicas, de desecho y exceso de agua de la sangre del paciente o tejidos adyacentes a la solución de diálisis. La eliminación de dichas sustancias se produce mediante el drenaje del líquido de diálisis

INTRODUCCIÓN

introducido en la cavidad peritoneal. Existen varios tipos de DP, las más importantes son la DP continua ambulatoria y la DP automática.

1.2. ACCESOS VASCULARES PARA HEMODIÁLISIS

La HD es una modalidad de TRS que requiere de un AV de larga duración. Dicho acceso se consigue con la realización de una fistula arteriovenosa (FAV) autóloga o protésica, o con la utilización de un catéter venoso central (CVC). La FAV autóloga o protésica es, actualmente, el AV recomendado para comenzar la HD. El AV debe permitir un abordaje seguro y continuado del sistema vascular, un flujo sanguíneo adecuado para el desarrollo de la HD, una vida media larga y un porcentaje reducido de complicaciones, como infección, estenosis, trombosis, aneurisma e isquemia [12].

La edad del paciente, la presencia de factores asociados de comorbilidad, la anatomía vascular, los AV previos y la urgencia en la utilización de dicho acceso, van a marcar el tipo de AV más adecuado en cada paciente en un momento concreto dado [13-16], así como el tiempo estimado en el que el paciente permanecerá en HD, y la estimación de la esperanza de vida de dicho paciente.

Hoy en día las complicaciones relacionadas con el AV en HD siguen siendo unas de las causas principales de la hospitalización y morbilidad en estos pacientes, con el coste sanitario asociado que eso supone [17, 18].

Las recomendaciones de la Sociedad Española de Nefrología [19] son las siguientes:

- El AV a considerar como primera opción debe ser la FAV autóloga (Evidencia A).
- En el caso de que no exista lecho vascular adecuado que permita realizar un AV autólogo, habrá que utilizar una prótesis vascular (Evidencia B).

INTRODUCCIÓN

- La implantación de un CVC ha de considerarse cuando no sea posible realizar ninguna de las opciones de AV anteriores o cuando sea preciso iniciar el tratamiento con HD sin disponer de un AV definitivo y maduro (Evidencia B).
- El AV más apropiado en cada caso dependerá de una serie de factores del propio paciente (edad, factores de comorbilidad, anatomía vascular, accesos previos, plazo para su utilización, etc.), que el cirujano vascular debe tener en consideración antes de la creación del AV (Evidencia B).

La utilización de CVC como AV definitivo para HD, no debe considerarse como primera opción, ya que existen otros accesos que ofrecen mejores resultados y menor grado de complicaciones [20-25], pero en ocasiones constituyen una alternativa al AV permanente, ya que proporciona un acceso al torrente circulatorio de forma rápida y permite la realización de una diálisis eficaz. Por lo tanto, deberán ser utilizados sólo en aquellos pacientes en los que no sea posible el uso de una FAV o prótesis arteriovenosa, ya sea por imposibilidad de creación (por ausencia de arterias con un flujo adecuado), en espera de desarrollo adecuado de un AV creado, en pacientes con contraindicación para la realización de DP, ante fracaso renal agudo, a la espera de un trasplante renal o bien en aquellos que por circunstancias especiales (como por ejemplo enfermedad maligna, estado cardiovascular) deseen dicho acceso o no exista otra posibilidad.

La incidencia tanto en morbilidad como en mortalidad, es más elevada en los pacientes que realizan la HD a través de CVC que en aquellos que la realizan a través de FAV o injerto [26].

En EEUU el 24% de los pacientes prevalentes usan FAV para HD. La prevalencia de FAV está significativamente asociada con edad más joven, sexo masculino, bajo índice de masa corporal, no estatus de diabetes, ausencia de enfermedad vascular periférica y no angina. Entre los pacientes incidentes, solo el 15% usan FAV

INTRODUCCIÓN

para la HD, mientras el 60% usa CVC. Además en EEUU, el 46% de los pacientes incidentes no tienen un acceso permanente antes de comenzar la HD [26].

1.2.1. CATÉTER VENOSO CENTRAL

La utilización de CVC para HD no debe contemplarse como primera opción como acceso vascular, sin embargo, el perfil renal del paciente que recibe HD como TRS ha cambiado en los últimos años, y éstos pueden estar indicados en situaciones clínicas concretas. En estos casos, los CVC resultan imprescindibles para poder realizar la HD. En los últimos años hemos asistido a un aumento de los pacientes portadores de un catéter permanente o temporal como AV [27].

Según la Sociedad Española de Nefrología los CVC deben considerarse en las siguientes situaciones[19]:

- Fracaso renal agudo o crónico agudizado en el que se precise un AV para HD de forma urgente (Evidencia A).
- Necesidad de HD con AV permanente en fase de maduración o complicada sin posibilidad de punción, a la espera de nuevo AV (Evidencia A).
- Imposibilidad o dificultad de realización de un AV adecuado, ya sea por mal lecho arterial o por falta de desarrollo venoso (Evidencia B).
- HD por períodos cortos en espera de trasplante renal de vivo (Evidencia C).
- Pacientes con circunstancias especiales: esperanza de vida inferior a un año, estado cardiovascular que contraindique la realización de AV, deseo expreso del paciente, etc. (Evidencia C).

INTRODUCCIÓN

El uso de los CVC ha aumentado debido al incremento de pacientes con circulación periférica alterada, diabéticos y/o edad avanzada [28] El agotamiento de la red venosa, en un 42% de los casos es la principal causa de inserción de un CVC [29]. Otros motivos que conllevan al uso de los CVC de forma temporal son el desarrollo y maduración de la FAV, en un 24% de los casos, y la reparación de la FAV, en un 14% de los casos[29].

En EEUU, entre un 60% y un 70% de los pacientes que inician diálisis lo hacen a través de un catéter y un 31% lo hacen con un CVC tunelizado (CVCt) como AV permanente [30]. Entre los pacientes prevalentes sometidos a HD portadores de CVC se encuentra un porcentaje que oscila entre un 30% y un 40% [31, 32]. En Europa la incidencia de los pacientes que inician la HD con un catéter oscila entre un 15% y un 50% [26, 29].

Aunque las recomendaciones de las guías existentes de AV marcan como objetivo disminuir en lo posible el uso de CVC en las unidades de HD y aumentar a su favor el uso de FAV e injertos vasculares, en muchas ocasiones no es posible [33-36]. El porcentaje ideal de catéteres permanentes en los pacientes dializados en la Unidad, se considera que ha de ser inferior al 10%, teniendo en cuenta tanto los pacientes incidentes como prevalentes [34].

Un estudio sobre la distribución del AV en España demostró que los CVC constituyen el primer AV, estimándose una implantación anual de 12.000 CVC en su mayoría temporales (60%) [29].

La aparición de complicaciones como disminución del flujo, trombosis, estenosis venosa central e infección pueden comprometer el uso de los CVC [37]. No obstante, poseen ventajas muy importantes respecto a los demás AV (FAV e injertos

INTRODUCCIÓN

arteriovenosos), como la posibilidad de su uso inmediato tras su inserción [38] y la ausencia de provocación de alteración de la función cardíaca [16].

1.2.1.1. TIPOS DE CATÉTERES VENOSOS CENTRALES USADOS EN HEMODIÁLISIS

Para la realización de la HD mediante CVC es necesario el empleo de un CVC de doble luz. A través de una luz se retira la sangre, realizando la función de extracción (rama arterial) y a través de la otra luz la sangre retorna después de la diálisis, realizando la función de retorno (rama venosa). La longitud de los CVC puede ser variable así como el lugar de inserción [29].

Existen dos tipos de CVC que se pueden usar para el desarrollo de esta técnica:

- CVC no tunelizado (CVCnt)
- CVC tunelizado

Se recomienda utilizar la técnica de tunelización cuando sea necesario colocar un catéter como AV para ser utilizado durante más de 3 ó 4 semanas [39, 40], ya que a partir de la tercera semana de uso de los CVCnt, se comienzan a detectar complicaciones infecciosas. Esta técnica de tunelización, introducida en 1988, ha mostrado reducir la incidencia de infecciones y la disfunción con respecto a los catéteres no tunelizados [41, 42]. Por lo tanto, para disminuir las tasas de infección, si no es posible la creación de una FAV es preferible dializar a través de AV definitivos.

Los CVCT tienen una menor incidencia de infecciones gracias, sobre todo, a su sistema de inserción con manguito (*cuffs*), que es una porción, un “rodete” de dacrón o poliéster ubicado cerca del sitio de salida del catéter que actúa como anclaje, fijándolo, por la formación de tejido fibroso a su alrededor. Este manguito actúa como barrera mecánica impidiendo el proceso de migración de microorganismos desde la zona de

INTRODUCCIÓN

inserción hacia la luz venosa [43, 44], evitando una de las vías de infección de los CVC, la colonización extraluminal [45, 46]. Hay que tener en cuenta, que aunque el *cuff* hace que disminuya la tasa de infección, normalmente el uso de los CVCt es prolongado, y ello por sí mismo, hace que aumente el riesgo de infección [47].

El material con el que se fabrica el CVCt normalmente es silicona, poliuretano o de copolímeros (carbonato). Existen otros catéteres de polietileno o teflón, pero actualmente no suelen ser utilizados. Los catéteres de politetrafluoroetileno o de poliuretano parecen estar asociados con menores complicaciones infecciosas que los fabricados con polivinilo o polietileno [48-50]. El material utilizado para la fabricación de los catéteres es importante, ya que existen determinadas soluciones antibióticas o antisépticas que se usan habitualmente y que podrían interferir negativamente en algunos materiales. El alcohol, el polietilenglicol que contiene la crema de mupirocina o la povidona yodada interfieren con el poliuretano y pueden romper el catéter. La povidona yodada también interfiere con la silicona produciendo su degradación y rotura [51]. Existen catéteres y *cuffs* impregnados con sustancias antibióticas o antisépticas. Algunos han demostrado su eficacia, y se recomienda usar CVC impregnados en clorhexidina/sulfadiazina argéntica o minociclina/rifampicina cuando el catéter va a permanecer insertado al menos 5 días. Sin embargo, la mayoría de los estudios realizados se han llevado en catéteres de triple lumen, no tunelizados, en pacientes adultos y permanencia de menor de 30 días [52].

La longitud del catéter varía según la vena a canalizar. Se acepta generalmente una longitud de 15 cm para catéteres en yugular interna derecha, de 20 cm para yugular interna izquierda, y de 20 a 24 cm en vena femoral. El diámetro externo del catéter oscila entre 11 y 14 French (unidad de medida de diámetro). La longitud del catéter varía según la vena que se va a canalizar. Si el paciente mide más de 150 cm de altura,

INTRODUCCIÓN

dado que las puntas deben estar ubicadas en la aurícula, se necesitan longitudes de 20-24 cm para los catéteres de yugular interna derecha, de 25 cm o más para los de yugular izquierda, y de 25-35 cm para los femorales. La porción extravascular en los CVCt suele ser de unos 8 a 10 cm. Una longitud total excesiva del CVC reduce los flujos y, por lo tanto, la calidad de la diálisis

El lugar de inserción del catéter influye en el riesgo de infección. En los CVCt la vía femoral es la que se infecta con mayor frecuencia (7,6 episodios/1.000 días de catéter) comparada con la yugular (5,6 episodios/1.000 días de catéter) y la subclavia (2,7 episodios/1.000 días de catéter) [53, 54]. En la inserción de CVCt debe considerarse como primera opción la vena yugular interna derecha. Esta localización es la vía que mejores resultados presenta en cuanto al flujo y además presenta menor frecuencia de estenosis y trombosis venosa [55-58]. Las venas subclavias se asocian con menor tasa de infección. Sin embargo, sólo deben emplearse cuando las demás venas no puedan ser utilizadas, ya que se asocian con una mayor incidencia de estenosis o trombosis [59].

Los CVC deben ser colocados en salas con requerimientos especiales (quirófano, sala de radiología, etc.), y aunque pueden ser usados inmediatamente, parece prudente esperar 24-48 horas antes de su uso [59, 60]. El recambio de un catéter por otro puede realizarse usando una guía que reduce el número de procedimientos por separado en el paciente, no necesitando así esperar un determinado tiempo si no se utilizase ésta [37].

1.3. COMPLICACIONES ASOCIADAS AL EMPLEO DE CATÉTERES VENOSOS CENTRALES

En la actualidad, tanto las recomendaciones norteamericanas como las europeas sugieren limitar drásticamente la utilización de los catéteres para evitar el aumento de la morbi-mortalidad de los pacientes en HD. Datos de estudios recientes indican que el 15,1% de los pacientes sometidos a HD mediante catéter fallecen en los primeros 90 días desde el inicio de esta técnica comparado con sólo el 6,7% en los pacientes con FAV [61].

El aumento del uso de los CVC hace que las complicaciones relacionadas con este tipo de AV constituyan un problema actual y creciente en la asistencia al paciente en HD [62]. Las complicaciones de los AV para HD constituyen la principal causa de ingreso hospitalario en este tipo de enfermos, así como una importante proporción de los gastos anuales relacionados. Paralelamente a la utilización generalizada de los catéteres en HD se ha asistido a la aparición de un número importante de complicaciones. Estas complicaciones pueden dividirse en complicaciones precoces o inmediatas a la implantación (surgen en las primeras horas) y en complicaciones tardías a la implantación [63-69].

Las complicaciones precoces o inmediatas son infrecuentes y están relacionadas con el procedimiento de inserción del CVCt [63, 66, 70]. Entre ellas, las descritas más frecuentemente son: hematomas, punción arterial, neumotórax, neumomediastino, hemotórax, taponamiento pericárdico, hematoma retroperitoneal, arritmias cardíacas, roturas cardíacas, parálisis del nervio recurrente laríngeo, embolismo del catéter, rotura del catéter, disfunción del catéter, etc. [19, 58, 59]. A corto-medio plazo, puede surgir estenosis vascular. Ésta se presenta generalmente de forma asintomática, en un 27% de los CVC de larga duración [26].

INTRODUCCIÓN

Las complicaciones tardías, desarrolladas a largo plazo, están relacionadas con la manipulación y el mantenimiento de los catéteres. Principalmente incluyen mal función del catéter, debida en la mayoría de los casos a la trombosis, e infección relacionada con el catéter, siendo la bacteriemia relacionada con el catéter (BRC) la más peligrosa. Como consecuencia del desarrollo de estas situaciones la vida útil del catéter se va a ver limitada [71-74].

Los pacientes en tratamiento con HD presentan con frecuencia alteraciones de la hemostasia que favorecen la aparición de trombosis. Este estado de hipercoagulabilidad, contribuye a la presencia de complicaciones isquémicas en órganos vitales y puede, a su vez, favorecer la trombosis del AV [19, 75]. En pacientes en HD, el número de plaquetas circulantes activadas es frecuentemente elevado, debido probablemente, a mecanismos como el aumento de adhesión a los componentes del circuito extracorpóreo, o como consecuencia de las turbulencias y estrés endotelial. Por otra parte, la presencia de anticuerpos antifosfolípidos (incluye anticoagulante lúpico y anticuerpo anticardiolipina) constituye así mismo un factor de riesgo de trombosis del AV [75].

Tras la inserción del catéter, proteínas plasmáticas como la fibrina, fibrinógeno y fibronectina, recubren y quedan adheridas a la superficie de dicho catéter. Estos depósitos de proteínas favorecen la adherencia de plaquetas, promueven la trombogénesis y la formación de coágulos de fibrina [76, 77], así como la adhesión de microorganismos [78-81] favoreciéndose la formación de *biocapas* [82-85].

Las manifestaciones clínicas de la trombosis pueden ser: un inadecuado flujo de sangre que impediría la correcta realización de la HD, un embolismo pulmonar o sistémico, o presentación de un coágulo intracardiaco [59]. La incidencia de trombosis

INTRODUCCIÓN

en los pacientes en HD portadores de CVCt oscila entre un 2% y un 64%, siendo una causa común de mal función del CVCt [86].

Como se ha señalado anteriormente, las complicaciones mecánicas, concretamente las complicaciones trombóticas, y la colonización del catéter están íntimamente relacionadas [76-78, 87-89]. Además del favorecimiento de la colonización por microorganismos sobre las paredes del catéter, la presencia de un trombo infectado puede provocar la liberación de pequeños émbolos infectados provocando una BRC.

Con el fin de evitar o disminuir estos depósitos de proteínas sobre la superficie del catéter, que conllevan la posible formación del trombo y posterior adhesión y/o diseminación de microorganismos, se han realizado estudios utilizando fármacos fibrinolíticos para resolver la trombosis, intentando disolver los coágulos formados depositados sobre la superficie del catéter y favorecer la eliminación de los microorganismos adheridos a este coágulo [78, 90]. Sin embargo, el beneficio del uso de estos fármacos en el tratamiento de la infección relacionada con el catéter todavía no está esclarecido, y cabe la posibilidad de que su uso conlleve complicaciones tan graves como la sepsis, al facilitar la diseminación de coágulos de fibrina infectados [91]; por lo tanto, a día de hoy, no se recomienda la utilización de fármacos trombolíticos locales para tratar la infección del catéter (Evidencia BI) [92].

La infección relacionada con el catéter es la complicación más grave y frecuente asociada al uso de los CVC [19] (desarrollado en el apartado siguiente: 1.3.1.). Entre las consecuencias derivadas de la infección, y más concretamente con la BRC se encuentran situaciones tan graves como la sepsis, endocarditis infecciosa, osteomielitis (6%-15%), artritis séptica (2%-5%), émbolos sépticos a otros órganos (5%), como émbolo pulmonar séptico o émbolo cerebral séptico (1%-2%), absceso epidural, endocarditis infecciosa (4%-17%) e incluso la muerte [47, 72, 93-95]. Las

INTRODUCCIÓN

complicaciones derivadas de la infección van a depender así mismo del tipo de microorganismo que causa la infección [96]

No existen diferencias en las tasas de complicaciones entre los pacientes en los que se opta por retirar el catéter inmediatamente (17%), y aquellos en los que se intenta conservar (13%) [72]. En el caso de obtener éxito en el intento de salvar dicho catéter, además de no ser necesario interrumpir el programa de HD, se asocia a menor coste e intervenciones para el paciente [47].

1.3.1. INFECCIÓN RELACIONADA CON EL EMPLEO DEL CATÉTER VENOSO CENTRAL EN LA POBLACIÓN SOMETIDA A HEMODIÁLISIS

Aunque el CVC no es el AV más idóneo para comenzar la HD, entre el 15% y el 50% de estos pacientes la inician por medio de un CVC [26, 97]. Una complicación potencialmente devastadora asociada al uso de CVC en HD es la infección [19]. En los pacientes en HD, la infección es la causa más común de morbilidad y la segunda causa de muerte, después de la enfermedad cardiovascular [98]. Las infecciones asociadas al AV son la principal causa de infección en esta población de pacientes [99, 100].

Los CVCnt están asociados con un mayor riesgo de infección, seguidos por los CVCT, y por último las fistulas e injertos [101, 102]. Sin embargo, la alta prevalencia de CVCT, hace que éstos sean responsables de la mayoría de los episodios infecciosos [54]. La mortalidad asociada oscila entre un 10% y un 14% [97].

1.3.1.1. CLASIFICACIÓN Y DEFINICIONES DE LAS INFECCIONES RELACIONADAS CON EL CATÉTER

Se distinguen dos tipos de infecciones asociadas al uso del catéter.

- Locales: éstas afectan al punto de entrada del catéter y/o al trayecto subcutáneo.
- Generalizadas: donde la infección se extiende al torrente sanguíneo (bacteriemias) que pueden dar lugar a complicaciones tan graves como endocarditis, meningitis, osteomielitis o *shock* séptico [103].

Las definiciones de los diferentes tipos de infecciones se muestran en la tabla 1. La infección local puede manifestarse por eritema, induración, dolor, supuración, necrosis, inflamación cutánea o subcutánea, celulitis, trombosis venosa o tromboflebitis infecciosa. La salida de pus por el punto de inserción orienta a infección en dicho lugar. La salida de material purulento puede darse en puntos adyacentes y distintos del origen de la inserción del catéter cuando el trayecto subcutáneo está infectado [43]. La colonización del catéter sin manifestaciones clínicas de infección, ocurre entre un 10% y un 55% de los catéteres de HD [104-106], por lo tanto esta progresiva colonización del catéter puede pasar inadvertida hasta que el paciente presenta una bacteriemia. En este caso, la fiebre con o sin escalofríos es el signo principal, y aunque es muy poco específica, se debe sospechar BRC en todo paciente portador de un catéter que presente un cuadro febril sin foco aparente que lo justifique. La infección generalizada puede presentar signos menores (fiebre con o sin escalofríos y leucocitosis) y mayores (sepsis con o sin *shock*). Todos estos signos pueden asociarse o no a un hemocultivo (HC) positivo, y a la inversa un HC positivo puede existir sin que estos signos estén presentes [1]. La clínica suele desaparecer al retirar el catéter infectado, a menos que exista una

INTRODUCCIÓN

infección local del trayecto subcutáneo, una flebitis séptica u otra localización metastásica [43] .

La BRC es una complicación del uso de los CVC mucho más grave que las infecciones locales. Aunque la BRC puede ser continua, suele presentarse durante la utilización del catéter para HD. En ocasiones, pueden presentarse signos locales orientadores como son el eritema e inflamación en el punto de inserción del AV o en el trayecto subcutáneo [43, 74, 107]. Estos signos cuentan con una elevada especificidad pero con poca sensibilidad [108].

Se han descrito en la literatura episodios de BRC y/o colonización en ausencia de manifestaciones clínicas. En el estudio realizado por Freitas y cols de 24 episodios de BRC, 17, es decir, 70,8%, no presentaron signos ni síntomas de BRC [109]. Aguinaga detectó 6 episodios de BRC sin manifestaciones clínicas y 24 episodios de colonización, todos causados por *S. epidermidis*. La tasa de BRC asintomática en este estudio fue de 37,5% [110]. En el estudio de Nielsen y cols, describieron un 73% de colonización endoluminal sobre los catéteres sin manifestaciones clínicas. No pudieron calcular en este estudio, cuántas de estas colonizaciones habían producido BRC, puesto que no tomaron muestras de sangre periférica [111].

INTRODUCCIÓN

Tabla 1. Definiciones de las infecciones relacionadas con el catéter (modificada de [21, 92, 112]).

Tipo de infección	Definición
Colonización catéter	Crecimiento de microorganismos en los cultivos realizados sobre el catéter (ya sea en punta, segmento subcutáneo y/o luz del catéter, mediante técnicas conservadoras o sobre catéter retirado) sin que existan signos clínicos de infección en el punto de entrada del acceso vascular ni signos clínicos de sepsis. La colonización puede ser o no significativa dependiendo del recuento hallado en los cultivos, del punto de corte establecido.
Flebitis (vena periférica)	Induración o eritema con calor y dolor en el punto de entrada y/o en el trayecto del catéter.
Infección microbiológica del punto de entrada	Cultivo positivo de microorganismos del punto de entrada del catéter, con o sin bacteriemia concomitante.
Infección clínica del punto de entrada	Signos locales de infección en el punto de entrada del catéter; enrojecimiento, induración, calor. Puede relacionarse con otros signos y síntomas de infección como fiebre y salida de material purulento, con o sin bacteriemia concomitante.
Infección del trayecto subcutáneo	Dolor, enrojecimiento, induración mayor a 2 cm desde el AV a lo largo del trayecto subcutáneo del CVCT, con o sin bacteriemia concomitante.
Bacteriemia o fungemia relacionada con el catéter (diagnóstico sin retirada)	Cuadro clínico de sepsis, sin otro foco aparente de infección, en el que se aísla el mismo microorganismo en HC simultáneos en una proporción superior o igual a 5:1 en número de unidades formadoras de colonia o en 120 minutos en tiempo de positividad, en las muestras extraídas a través de catéter respecto a las obtenidas por venopunción.
Bacteriemia o fungemia relacionada con el catéter (diagnóstico tras su retirada)	Aislamiento del mismo microorganismo (especie e idéntico antibiograma) en el HC extraído de una vena periférica y en un cultivo cuantitativo o semicuantitativo de la punta del catéter en un paciente con cuadro clínico de sepsis y sin otro foco aparente de infección.
Bacteriemia o fungemia probablemente relacionada con el catéter, en ausencia de cultivo de catéter	Cuadro clínico de sepsis, sin otro foco aparente de infección, con HC positivo, en el que desaparece la sintomatología tras 48 h de la retirada de la línea venosa.
Bacteriemia o fungemia relacionada con el líquido de infusión	Cuadro clínico de sepsis, sin otro foco aparente de infección, con aislamiento del mismo microorganismo en el líquido de infusión y en el HC extraído.

1.4. BACTERIEMIA RELACIONA CON EL CATÉTER EN LA POBLACIÓN EN HEMODIÁLISIS

En Estados Unidos se estima que cada año son sometidos a HD por fallo renal crónico aproximadamente 150.000 pacientes. En España alrededor de 15.000 pacientes reciben esta terapia [7]. El riesgo de muerte atribuible a sepsis en esta población es 100 veces mayor que en la población general. Las bacteriemias son responsables del 75% de las muertes en los pacientes sometidos a HD [98]. El AV en HD es la primera fuente de bacteriemia, siendo el CVC el que conlleva el mayor riesgo de bacteriemia [30, 97, 99, 113-116] y de muerte [117, 118], comparados con otros tipos de AV [39, 61, 119]. Se estima que los CVC son el origen de entre el 50% y 80% de las bacteriemias en pacientes sometidos a HD [97]. Se ha documentado que el riesgo de BRC es 48% mayor a los 6 meses de la inserción del CVC [97]. Se estima que anualmente aproximadamente el 30 % de los pacientes que usan un CVC experimentan un episodio de bacteriemia o sepsis. Además, la BRC es responsable de la retirada del CVC en uno de cada tres casos [117].

La incidencia global de BRC en EEUU se estima entre un 0,2 a 7,2 episodios por 1.000 días de catéter [120, 121]. Según las distintas series, la incidencia media de BRC en los CVCnt oscila entre 3,5 y 6,5 por 1.000 días de catéter, mientras que en los CVCt es de 1,6-5,5 por 1.000 días de catéter [42, 54, 122]. La hospitalización relacionada con sepsis ha aumentado en un 50% en menos de una década [123]. Además, la BRC supone una gran carga para el sistema sanitario, aumentando las tasas de hospitalización [117], los gastos relacionados con el tratamiento [124] y contribuyendo a la retirada prematura del CVC [117]. El tratamiento de un episodio de BRC en Estados Unidos, se estima en una media de 29.156\$ por episodio de bacteriemia [125], pudiendo oscilar este gasto entre 4.000 y 80.235\$ por episodio. Así, el tratamiento de un episodio de

INTRODUCCIÓN

BRC en un paciente en HD en los Estados Unidos, oscila en una media entre 22.000 y 23.451\$ por episodio de bacteriemia [113, 126], pudiendo ascender esta cifra hasta los 45.000\$ por episodio [127].

La BRC constituye junto con la trombosis y la disfunción del catéter una de las complicaciones tardías más frecuentes y relevantes. En uno de cada tres casos es la causa de la retirada del mismo [1]. Tras un episodio de BRC, puede darse un serio acontecimiento adverso como es una BRC recurrente, complicaciones asociadas a la infección o muerte del paciente. Las tasas de BRC recurrentes varían desde el 12% al 66% en la mayoría de las series publicadas en CVCT. El intento de salvar el catéter, se ha asociado a un mayor fracaso del tratamiento [54, 72, 128, 129]. También se encuentra relacionado como factor de riesgo en el desarrollo de BRC recurrente, el bajo nivel de albumina así como presencia de trombos [130]. A diferencia de otros estudios, Onder y cols detectan mayores niveles de hierro intravenoso en los catéteres que no presentaron recurrencia [130].

1.4.1. FACTORES DE RIESGO EN EL DESARROLLO DE BACTERIEMIA RELACIONA CON EL CATÉTER EN LA POBLACIÓN SOMETIDA A HEMODIÁLISIS

La elevada susceptibilidad frente a las infecciones que sufren los pacientes en HD, es debida probablemente a la interacción de diversos factores [28, 99, 131]. Estos factores se pueden agrupar en cuatro grupos principales (Tabla 2): factores relacionados con el huésped, con el catéter, con el patógeno y con el procedimiento de HD [93, 96, 132].

Tabla 2. Factores de riesgo en el desarrollo de BRC en los pacientes sometidos a HD.

FACTORES RELACIONADOS CON EL HUÉSPED	
-Inmunidad disminuida	-Incremento de los niveles de hierro intravenoso.
-Portador nasal <i>S. aureus</i>	-Aumento de dosis de eritropoyetina recombinante humana
-Edad avanzada	-Bajo nivel de hemoglobina
-Diabetes <i>mellitus</i>	-Bajo nivel de albúmina
-Hospitalización reciente	
-Vendaje oclusivo	
-Pobre higiene personal	
FACTORES RELACIONADOS CON EL CATÉTER	
-Lugar de inserción	-Diseminación hematógena al catéter desde otro foco de infección
-Pérdida de asepsia durante la inserción del catéter, o durante la manipulación	-Bacteriemias previas
-Alteración de la integridad de la piel	-Contaminación de la luz con líquido de infusión
-Aumento de vida útil del catéter	-Contaminación de la luz del catéter
-Colonización de la punta del catéter y del tracto subcutáneo con microbiota epitelial	-Material del catéter
FACTORES RELACIONADOS CON EL PATÓGENO	
-Virulencia bacteriana	-Formación de <i>biocapa</i>
-Coinfección	-Infección contigua
FACTORES RELACIONADOS CON EL PROCEDIMIENTO DE HD	
-Contaminación del equipo dializador o del líquido de HD	-Inadecuado tratamiento del agua
-Reutilización del dializador	-Manipulación del CVCT

INTRODUCCIÓN

La disminución de la función inmunitaria es debida varios factores [133, 134]. Los pacientes con IRCT presentan alteración de los mecanismos de defensa, debido en parte a las enfermedades subyacentes propias de estos pacientes (diabetes, neoplasias), a la malnutrición secundaria a la uremia, y al tratamiento de HD [135, 136]. La uremia parece favorecer el déficit de la función fagocítica de los granulocitos, inmunidad celular y producción de anticuerpos [133, 135-138]. Además la inflamación inducida por membranas de celulosa reutilizadas en el equipo de diálisis, pueden causar estrés oxidativo y activación de la apoptosis, con disminución del número de linfocitos T, lo que agrava el déficit de inmunidad celular [135, 139-141]. La uremia, por sí misma, puede favorecer también este proceso de estrés oxidativo [135]. Hasta un 50% de la población en HD presenta hipotermia y en algunos pacientes existe una respuesta pirética disminuida e incluso ausencia de leucocitosis durante el curso de la infección. Ello conlleva a que infecciones graves puedan pasar desapercibidas o a manifestarse como subclínicas, con pocos signos de infección, llevando a un retraso en el diagnóstico y en el tratamiento [74, 142].

Otros factores de elevada prevalencia en la población sometida a HD como son la edad avanzada [28] y la diabetes *mellitus* [74, 93, 99], influyen también el riesgo de desarrollar BRC.

Otros factores que han sido asociados con aumento del riesgo de padecer infección en pacientes en HD son: anemia [99], malnutrición e hipoalbuminemia [28, 93, 99, 130], incremento de los niveles de ferritina y sobrecarga de hierro [143-147], hipertensión arterial [148], aterosclerosis [149], obesidad [150], haber sufrido hospitalizaciones o cirugías recientes [93, 151], aumento de dosis de eritropoyetina recombinante humana [41], la falta de higiene personal [59, 74, 97, 152], la aplicación de vendajes oclusivos, así como mantener húmeda la zona alrededor de la zona de

INTRODUCCIÓN

inserción [93]. La probabilidad de desarrollar BRC aumenta también en pacientes con previos episodios de BRC y terapia inmunosupresora [72, 153]. También, los pacientes con hepatitis C, con viremia demostrada, tienen mayor tasa de incidencia de BRC que los pacientes con títulos indetectables [43].

Algunos estudios difieren en la definición de algunos factores de riesgo. Así en algunos no se define como riesgo para el desarrollo de BRC en los pacientes en HD la infección por VIH [153], y en otros sí [130]. Aunque este último estudio lo define en población infantil. En otros estudios, no se señala el VIH como un factor específico, si bien es verdad, que una vez de que se desarrolla la bacteriemia, la severidad de la infección en estos pacientes es mucho más elevada, incluyendo además una elevada incidencia de infecciones polimicrobianas [154].

Además, los pacientes en diálisis tienen frecuentes y repetitivas exposiciones a potenciales factores de riesgo infecciosos durante el curso normal de la terapia de HD, como por ejemplo la constante disrupción de la barrera de la piel en pacientes portadores CVC [155] o la elevada frecuencia de manipulación del CVC. Las medidas de manipulación adecuadas del CVC son vitales en la prevención de las infecciones relacionadas con el catéter [156-159].

El estado de portador nasal de *S. aureus* en pacientes en HD es un factor que predispone al desarrollo de BRC por este microorganismo [99, 105, 149, 160-165]. Zimakoff y cols documentaron en su estudio, que las BRC debidas a *S. aureus* eran más frecuentes en pacientes portadores nasales de *S. aureus*, y en más del 50% de los casos la misma cepa de *S. aureus* aislada en el CVC fue detectada también en el paciente, bien en fosas nasales o piel [166]. En las BRC en los pacientes en HD, *S. aureus* es un factor independiente en la generación de complicaciones y el fallo en el tratamiento de la BRC [128]. Hay que tener en cuenta que este factor cobra importancia a causa de la elevada

INTRODUCCIÓN

prevalencia de portadores nasales de *S. aureus* en los pacientes en HD, que oscila entre el 35–62% [61] llegando a ser el doble que en población general [167].

La vida útil del catéter es un factor de riesgo bien documentado en relación al desarrollo de BRC [93, 95, 104, 105, 149, 165]. El lugar de inserción, así como el tipo de catéter también tienen un papel importante en el riesgo de infección. En los CVC, la vía femoral es la que se infecta con mayor frecuencia, seguida por la yugular, y por último la vía subclavia es la que documenta menor tasa de infección [53, 54].

El material con el que está fabricado el CVC también influye en el desarrollo de infección relacionada con dicho catéter [168]. El politetrafluoroetileno y el polimetilmetacrilato parecen disminuir la función inmunológica [169]. La adhesión varía también según el material del catéter, siendo mayor con el polivinilo o polietileno, y menor con el teflón, la silicona y el poliuretano [48].

La resistencia a la terapia antibiótica creada a causa de la formación de *biocapas* sobre el catéter, influye también en el desarrollo de infección relacionada con dicho catéter, haciendo la colonización del catéter más persistente y difícil de eliminar [129, 170].

1.4.2. ETIOLOGÍA DE LA BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER EN LA POBLACIÓN SOMETIDA A HEMODIÁLISIS

Aproximadamente dos tercios de los episodios de BRC en HD son causados por microorganismos gram positivos, causando los cocos gram positivos entre un 52% y 85% de las infecciones [37, 74, 93, 99, 165]. Los principales agentes causantes son los Estafilococos, tanto estafilococos coagulasa negativos (ECN), como *S. aureus*, responsables entre un 40 y 81% de los casos documentados [72, 104, 104, 105, 129, 171].

INTRODUCCIÓN

Los ECN son los microorganismos más frecuentemente involucrados en las infecciones relacionadas con el catéter. Esto es debido a que forman parte de la flora cutánea, tienen pocos requerimientos nutritivos, gran capacidad de adherencia y de colonización de las superficies plásticas [95, 104, 109, 172, 173]. En concreto, *S. epidermidis* es el microorganismo más frecuentemente aislado [174-177].

La proporción de infecciones por *S. aureus*, es más elevada en los pacientes en HD que en otros grupos de pacientes, como ya se ha citado anteriormente, debido probablemente a la elevada tasa de portadores nasales en pacientes hemodializados por este microorganismo (35–62%) [61]. Sin embargo, si mediante las medidas adecuadas se consigue la disminución de portadores nasales de *S. aureus*, se observa una drástica reducción en las bacteriemias por este microorganismo [167]. Las tasas de BRC debidas a *S. aureus* varían en función del estudio, oscilando entre un 22% y un 80%, normalmente, se encuentra involucrado entre un 22% y 60% de las BRC en pacientes en HD [93, 104, 105].

Otros microorganismos gram positivos como *Enterococcus* spp., son causa entre un 2% y 18% de las BRC y microorganismos de la piel como *Streptococcus* spp., *Bacillus* spp. y *Corynebacterium* spp., también se encuentran implicados en el desarrollo de BRC en pacientes en HD [93].

El aislamiento de bacilos gram negativos (BGN) (20%-28%) como *Pseudomonas aeruginosa* (2%-15%), *Acinetobacter* spp. (13%), *Escherichia coli* (10%), *Enterobacter cloacae* (9%), *Klebsiella pneumoniae* (6%), *Serratia marcescens* (1%-2%) u hongos (como *Candida* spp.) es menos frecuente, y suele estar relacionado con líquidos de infusión contaminados [93]. Sin embargo, aunque la incidencia de BRC debida a BGN es baja, se encuentra en aumento [178] y son una causa común en pacientes inmunocomprometidos con catéteres tunelizados [108, 179]. Incluso en algún

INTRODUCCIÓN

estudio se han situado como responsables del 30% de las BRC, con *Enterobacter* spp. y *Pseudomonas* spp. como principales responsables [128, 180-183].

Las infecciones polimicrobianas se sitúan entre el 16% y el 20% de los casos de infección [54, 72, 93, 128, 129, 182-184]. El aislamiento de microorganismos como *Mycobacterium* spp. es muy poco frecuente [93].

Las infecciones relacionadas con el catéter debidas a ECN se manifiestan normalmente con fiebre unida a signos de inflamación en la zona pericatóter o en algunos casos sólo con fiebre. La mayoría de los pacientes presentan curso benigno y raramente desarrollan signos y síntomas de sepsis [174, 175, 177, 185].

En la tabla 3 se muestran los microorganismos aislados en distintas series de pacientes en hemodiálisis.

Tabla 3. Microorganismos implicados en la bacteriemia relacionada con el catéter en HD según diferentes estudios [1, 47].

Autor	Fecha	Nº	Tasa BRC*	Gram + (%)	SA (%)	ECN (%)	Enterococ (%)	Gram – (%)	Mixtas/ Otros (%)	Desc (%)
Capdevila	1990-1991	13	NM	62	15	38	0	31	7	0
Swartz	1990-1993	29	2,9/1.000	69	45	24	0	28	14	0
Shaffer	1992-1994	13	NM	-	0	54	8	15	15	8
Uldall	1993		1,6/1.000	62	-	-	-	-	-	0
Marr	1995-1996	62	3,9/1.000	65	44	15	5	24	11	0
Robinson	1996-1997	40	NM	78	35	22	13	19	3	0
Beathard	1996-1997	67	3,4/1.000	85	36	44	20	33	18	0
Tanriover	1997-1998	69	NM	64	-	-	-	36	-	0
Develter	1991-2002	59	1,7/1.000	58	-	-	-	41	1	0
Saad	Nov 1995-oct 1997	86	5,5/1.00	52	22	40	20	27	21	0
Tokars	Dic 1997-jul 1998	39	1,5/1.000	72	28	25	11	22	6	0
Dopirak	Abr 1999-mar 2000	134	41,5/100 paciente/año	62	20	29	13	30	8	0
Taylor	Dic 1998-may 1999	94	3,1/1.000	82	32	40	8	10	8	0
Tokars	Oct 1999-may 2001	917	1,8/1.000	44	32	32	10	18	1	0
Ibrik	Mar 1996-jul 2005	25	2,8/1.000	84		22		12	4	0
Colville	Jul 2002-jun 2003	32	NM	-	22	-	20	33	-	0

*La tasa de BRC se expresa por 1.000 días de catéter venoso central. NM: no mostrado; Nº: número de pacientes infectados; Gram+: microorganismos gram positivos; SA: *Staphylococcus aureus*; Enteroc: enterococos; Gram–: microorganismos gram negativos; Desc: desconocido.

1.4.3. PATOGENIA EN EL DESARROLLO DE LA BACTERIEMIA RELACIONA CON EL CATÉTER EN LA POBLACIÓN SOMETIDA A HEMODIÁLISIS

Los factores más importantes en relación con la patogénesis de la BRC son el material con el que el dispositivo está fabricado, factores del huésped como proteínas que recubren el catéter [186], y los factores de virulencia del organismo que causa la infección [187]. El material de algunos catéteres además presenta irregularidades en la superficie, lo que intensifica la adherencia de ciertas especies, como *S. epidermidis* y *Candida. albicans* [168, 188].

La colonización de cualquier dispositivo médico se puede producir durante el acto de su colocación. En este sentido, la inserción del implante bajo medidas estrictas de asepsia, así como la administración de profilaxis antibiótica justo antes de su colocación han demostrado un descenso significativo en la incidencia de infecciones en el momento de la implantación de estos dispositivos [156, 189]. A pesar de los esfuerzos en la optimización de los materiales utilizados en los dispositivos vasculares, la presencia de un cuerpo extraño en el organismo es un sustrato ideal para la colonización de los microorganismos [190].

Existen cuatro mecanismos principales (Figura 1) a través de los cuales los microorganismos alcanzan la superficie del catéter.

La colonización endoluminal, es la vía es la principal en los CVC de larga duración y particularmente en los CVCt [191]. Se produce a través de las conexiones externas por manipulación (26%) [45], por el incorrecto manejo, por la microbiota cutánea del personal sanitario que manipula el dispositivo, o por la microbiota del propio paciente [43, 192, 193]. Se estima que este mecanismo es responsable del 66%

INTRODUCCIÓN

de las infecciones [194]. Los microorganismos una vez que se han introducido en el lumen, migran a través de él, hasta alcanzar el torrente circulatorio [43].

La colonización extraluminal se produce por migración de la flora de la piel a través del trayecto cutáneo de fibrina alrededor del catéter, hasta alcanzar la superficie intravascular de dicho catéter, debido a la exposición continuada a la microbiota comensal de la barrera que atraviesa. Éste mecanismo es más común de infección en los catéteres de corta duración, menos de 10 días de inserción, siendo responsable entre un 70% y un 90% de ellas [192, 195-197].

Menos comunes son las infecciones producidas por diseminación hematológica desde un punto de infección distante (3-10%) [197], o por el uso de soluciones de infusión contaminadas [45, 46].

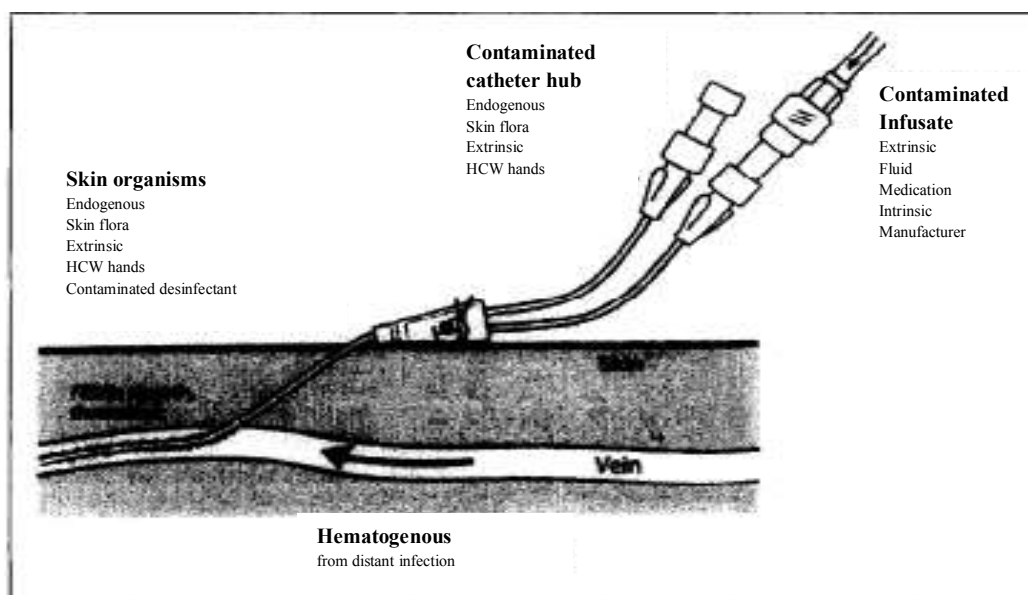


Figura 1. Patogénesis de la bacteriemia relacionada con el catéter.

I Migración de microorganismos cutáneos desde el sitio de inserción, colonización de la superficie externa **II** Contaminación de las conexiones del catéter: (colonización endoluminal). **III** Contaminación de los fluidos de infusión **IV** Colonización del catéter secundaria tras bacteriemia de otra etiología [46].

1.4.4. COLONIZACIÓN DE LOS CATÉTERES VENOSOS CENTRALES

Se ha documentado que la colonización de los catéteres sucede de forma sistemática tras su inserción [88, 95, 198-201].

En 1993, Raad y cols [88], en los análisis realizados mediante microscopía electrónica determinaron una colonización universal de los CVC de larga duración. Publicaron la existencia de bacterias visibles en el 100% de los 26 catéteres analizados con cultivo negativo, mediante técnica de Maki y cultivo tras sonicación. Aunque paradójicamente en 3 de los 39 CVC con cultivo positivo, no detectaron bacterias visibles mediante microscopía electrónica. Mediante las citadas técnicas de cultivo, únicamente en un 11% de los CVC se detectó crecimiento y en un 3% de los CVC se observaron manifestaciones clínicas de infección. Este estudio ha sido ampliamente citado en la literatura como evidencia de colonización universal en catéteres de larga duración.

En 2010 Kanna y cols [202], publican otro estudio de microscopía electrónica de barrido de CVC tunelizados de pacientes de HD. En el estudio incluyeron 11 CVCt que llevaban insertados una media de 196 días. Mediante la técnica de cultivo de cepillado endoluminal obtuvieron positividad en un 18% de los CVC; y mediante microscopía electrónica de barrido se detectó un 36% de colonización. El estudio de Kanna y cols mostraba además que en muchos CVC existía material biológico adherido, con apariencia heterogénea y variable incluso entre los extremos distal y proximal del CVC. Estos autores no lo denominaron *biocapa* puesto que no contenía bacterias.

La diferencia en los porcentajes de colonización de los catéteres obtenidos en ambos estudios puede ser debida a diversas causas, como las limitaciones propias de los medios de cultivo, a la mejora de la técnica de microscopía electrónica de barrido, la

INTRODUCCIÓN

posible identificación como microorganismos en el estudio de Raad del material adherido al catéter descrito por Kanna, unido a una muy posible disminución real en la colonización de los catéteres, a causa de la mejora de las técnicas de inserción y manipulación, concienciación del personal gracias a los programas de prevención de infecciones relacionadas con el catéter establecidos sin olvidar la aportación de los nuevos materiales con los que se fabrican los CVC y nuevas estrategias de prevención desarrolladas [88, 203-207].

1.5. FORMACIÓN DE *BIOCAPAS* EN LOS CATÉTERES

Una *biocapa* microbiana es una comunidad de microorganismos adheridos a una superficie (inerte o tejido vivo) y envueltos por una matriz compuesta por moléculas sintetizadas por el propio microorganismo y otras procedentes del huésped, que conforman una estructura tridimensional con una organización espacial compleja [198, 208]. La interacción inicial entre la bacteria y la superficie implica fuerzas físico-químicas no específicas tales como fuerzas de Van der Waals, interacciones hidrofóbicas y polaridad. La superficie bacteriana es compleja y en ella se encuentran tanto residuos cargados como residuos hidrofóbicos. Sin embargo, una vez que se realiza la implantación del catéter, se genera por parte del huésped la producción de una *biocapa* de proteínas y glucoproteínas que recubre el material insertado [209, 210]. Así pues, la adherencia inicial sobre material protésico puede ocurrir sobre material virgen o sobre materiales recubiertos con macromoléculas derivadas del huésped.

La adherencia de un microorganismo a una superficie es el paso inicial en la formación de la mayoría de las *biocapas*. Ésta está determinada por la combinación de interacciones entre la superficie bacteriana, la superficie del sustrato y el medio ambiente que les rodea [190]. La *biocapa* formada por el huésped alrededor del material

INTRODUCCIÓN

es rica en proteínas del suero del paciente como fibrina, fibrinógeno, fibronectina, laminina, etc., que facilitan la adherencia de los microorganismos al catéter a través de proteínas expresadas en la superficie del microorganismo. En el caso de *P. aeruginosa*, la adherencia inicial está mediada por hidrofobinas y/o adhesinas de superficie del tipo lectinas [209].

Podemos distinguir tres pasos en su formación (Figura 2):

1. Adherencia del microorganismo a la superficie
2. Producción de la matriz extracelular
3. Desprendimiento de parte de la *biocapa* al medio

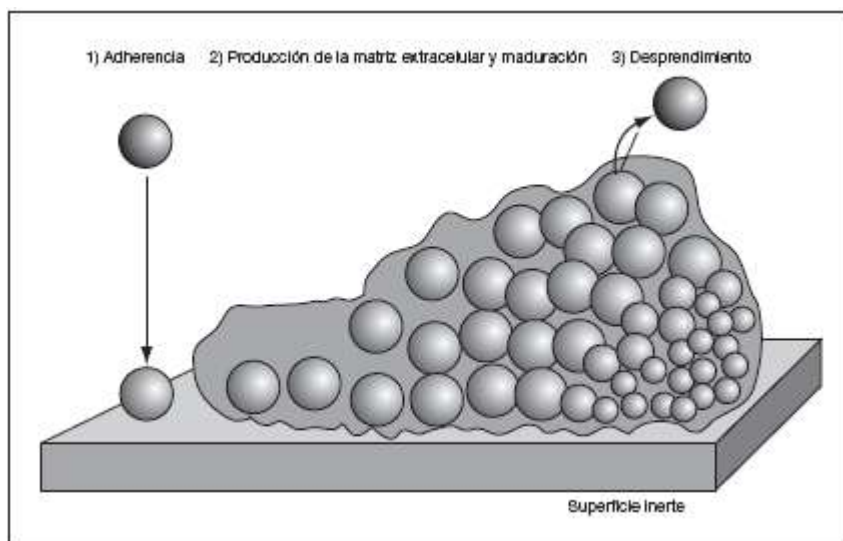


Figura 2. Bases moleculares de la adherencia microbiana sobre los materiales protésicos [211].

Algunos agentes, como los ECN, producen complejos glucoproteicos denominados “*slime*” o limo que les confiere protección frente al sistema inmunitario y favorece su multiplicación. Otros microorganismos como *P. aeruginosa* y *Candida* spp., pueden producir sustancias similares, sobre todo en medios ricos en glucosa [211].

INTRODUCCIÓN

Las concentraciones de antimicrobianos y/o desinfectantes necesarias para erradicar los microorganismos que forman parte de la *biocapa*, son mucho más elevadas, entre 100 y 1.000 veces superior, que en los mismos microorganismos que se encuentran sin formar parte de esta estructura, en condiciones de crecimiento planctónico [187, 212-214]. Los posibles factores que pueden explicar este aumento tan significativo de la resistencia de los microorganismos que crecen formando parte de una *biocapa* incluyen: una inadecuada o baja penetración del antimicrobiano, inactivación del antimicrobiano en la *biocapa*, microambiente químicamente alterado dentro de dicha *biocapa*, la naturaleza estructural, y las características fisiológicas intrínsecas de los microorganismos que forman parte de una *biocapa* y/o el desarrollo de alteración fenotípica en el microorganismo, hacia un estado de “hibernación”, caracterizado por un lento crecimiento microbiano [170, 213, 215-218]. La matriz polimérica actúa como una barrera frente a la difusión física y química en la penetración de agentes antimicrobianos. Esta barrera produce así mismo una limitación de nutrientes, que ralentiza el crecimiento de microorganismos en el interior de la *biocapa*. Además, una pequeña proporción de células puede diferenciarse a un estado fenotípico latente, similar al de las esporas. Estas células se han denominado “bacterias persistentes”. La falta de nutrientes, la concentración de detritus celulares, las diferencias en la concentración de oxígeno y cambios de osmolaridad entre otros en los diferentes lugares de la *biocapa* crean la existencia de microambientes específicos, y pueden resultar antagónicos frente a la actividad del antimicrobiano [83, 208, 219]. Con la finalidad de combatir específicamente los efectos de los agentes antimicrobianos, la *biocapa* experimenta, mediante estimulación de la respuesta de estrés, cambios genotípicos y fenotípicos. Mediante el “*Quorum sensing*”, mecanismo intrínseco de comunicación celular, los microorganismos que forman parte de la *biocapa* pueden coordinar la

INTRODUCCIÓN

expresión génica [205, 206, 220-222]. Todo ello, confiere una resistencia frente a los agentes antimicrobianos, desinfectantes y ante el propio sistema inmune del paciente, pudiendo producir recidivas y fracaso terapéutico [223, 224].

La formación de la *biocapa* en los catéteres puede producir por sí misma una BRC a través de la diseminación de microorganismos desde la masa adherida a dicho catéter. Además puede disminuir el flujo en el catéter, lo que desembocaría en una necesidad de mayor manipulación. El aumento en la frecuencia de manipulación del catéter supone un aumento del riesgo de infección. Incluso podría producirse la obstrucción del mismo. Por ello es práctica habitual en las unidades de HD sellar el catéter entre las sesiones con fármacos fibrinolíticos para resolver y/o evitar la trombosis [78, 90].

1.5.1. BIOCAPAS EN *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*

Actualmente *S. epidermidis* es considerado como un importante patógeno asociado a las infecciones con dispositivos médicos [225]. La propensión de *S. epidermidis* a causar este tipo de infecciones viene dada, en parte, por su capacidad de adherirse y proliferar sobre superficies inertes formando *biocapas*. En la década de 1980 se observó que *S. epidermidis* podía recubrir biomateriales, incluyendo placas microtiter, con una sustancia gelatinosa denominada *slime* [84]. Posteriormente, Baldassari y cols demostraron que el *slime* de estafilococo estaba compuesto de N-acetilglucosamina [226]. Numerosos estudios han demostrado que la formación de *biocapas* es el factor patogénico más importante en la infección asociada a dispositivos médicos por *S. epidermidis* [85, 225, 227-232].

Con respecto a la asociación de *S. epidermidis* con las superficies plásticas, los estudios de microscopía electrónica sugieren un proceso en dos fases [233]. En el

INTRODUCCIÓN

primer paso de adhesión, los estafilococos se unen a la superficie del dispositivo interaccionando también con los componentes de la matriz extracelular depositados en la superficie, de manera que se sitúan en esta matriz exopolisacáridica creando una biopelícula con una compleja arquitectura [234, 235]. Esta primera fase de adherencia puede involucrar, además de las interacciones no específicas, interacciones específicas mediante factores polisacáridicos o proteínas de superficie. En estafilococos, la interacción específica tiene lugar principalmente mediante proteínas expresadas en la superficie del microorganismo y la fibronectina que se deposita en el material [236, 237]. Lo más probable es que un pequeño número de los estafilococos que colonizan la piel contaminen el biomaterial durante su implantación (p. ej., inserción de un catéter). En el segundo paso, la fase acumulativa, de la formación de *biocapa*, la mayoría de los estafilococos no tienen contacto directo con la superficie del dispositivo, pero se mantienen en la *biocapa*, mediante la expresión de mecanismos adhesivos intercelulares [238].

Uno de los principales factores descritos que median la adhesión intercelular entre las bacterias y la acumulación en multicapas, en *S. epidermidis*, es el polisacárido de adhesión intercelular (PAI) [233, 234]. Por ello el PAI desempeña un papel importante en la adherencia de la bacteria al material inerte [239]. La biosíntesis de este polisacárido está catalizada por enzimas codificadas en el operón *ica* (adhesina intercelular) [233], y su control genético ha sido elucidado recientemente [240]. Comprende cuatro genes, *icaA*, *icaB*, *icaC* e *icaD*, y un gen regulador, *icaR*.

Tras la activación de este operón, el PAI es sintetizado, el cual aporta contactos célula-célula gracias a los cuales se puede formar la *biocapa* multilaminada. El PAI está compuesto por glucosaminoglucanos con uniones β -1,6. Éste es sintetizado in vitro a partir de UDP-*N*-acetilglucosamina por la enzima *N*-acetilglucosaminiltransferasa., que

INTRODUCCIÓN

es codificada por el operón *ica*, en concreto por el gen *icaA*. El producto del gen *icaA* es una proteína transmembrana con homología a las N-acetil-glucosiltransferasas [240]. La sola expresión de *icaA* induce una baja actividad enzimática transferasa. La expresión del gen *icaD* parece necesaria para una óptima actividad de N-acetilglucosamiltransferasa, por lo tanto la coexpresión de *icaA* junto con *icaD* conduce a un aumento significativo de la actividad, que es relacionada con la expresión fenotípica del polisacárido capsular. Cuando *icaA* se coexpresa con *icaD*, la actividad transferasa aumenta un orden de 20 veces aproximadamente [240]. Las funciones de *icaB* e *icaC* no están tan bien definidas. Es probable que *icaB* se secrete, mientras que *icaC* podría ser una proteína integral de membrana. [233] El producto del quinto gen, *icaR*, es un represor transcripcional que juega un papel adaptativo en la formación de *biocapas* mediante la modulación de la regulación de la expresión del operón *ica* en respuesta a condiciones ambientales específicas [241].

La expresión de los genes *icaADBC* es controlada por una compleja variedad de condiciones y factores. Uno de ellos es la inserción o escisión del elemento IS256 en diferentes localizaciones del operón. Se han descrito otros genes reguladores (*RsbU*, *Tca-R*, *agr*, *sarA*) en la producción de PAI. Incluso esta regulación puede ser más compleja, e ir más allá de la sola presencia o ausencia del operón *ica* [242-245].

1.5.1.1. POSIBLES MARCADORES DE INVASIVIDAD Y RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*

Diversos estudios revelan la importancia de la formación de *biocapas* en la patogénesis de *S. epidermidis* [85, 246-249]. Como consecuencia, se intentó demostrar la correlación entre virulencia y la formación in vitro de *biocapa* por *S. epidermidis*, usando diferentes métodos tanto fenotípicos como modelos de experimentación animal de infección con dispositivos médicos [85, 248, 250-252].

Múltiples estudios han intentado clarificar si las cepas de *S. epidermidis biocapa* positiva son más virulentas que las *biocapa* negativas. La identificación de los genes involucrados en la formación de *biocapas* por *S. epidermidis* ha abierto un amplio campo de investigación [253]. En estos últimos años se han llevado a cabo numerosos estudios con el fin investigar la distribución de los genes asociados a las *biocapas*, entre otros los genes que constituyen el operón *icaADBC*, *fbe*, IS256 y *atlE*, entre las cepas invasivas de *S. epidermidis* involucradas en infecciones en pacientes con bacteriemia o endocarditis infecciosa, infecciones protésicas, y cepas comensales obtenidas en voluntarios sanos [230, 254-262]. En diversos estudios se ha documentado que las cepas invasivas de *S. epidermidis* portan significativamente más frecuentemente estos genes que las cepas simplemente comensales, considerándose las cepas *icaADBC* negativas de *S. epidermidis* como no virulentas [263-265].

El papel del operón *ica*, la síntesis de PAI y la formación de *biocapa* en la patogénesis de *S. epidermidis* en las infecciones relacionadas con biomateriales ha sido estudiado en modelos animales [266-268]. Se encontró que la inactivación del operón *icaADBC* atenuaba la virulencia de *S. epidermidis*, poniendo en evidencia que la síntesis de PAI puede estar ligada directamente a la virulencia de este microorganismo

INTRODUCCIÓN

[269]. Se propuso el operón *icaADBC* como un marcador genético útil en la discriminación de cepas de *S. epidermidis* invasivas de las comensales o contaminantes en HC [255]. En numerosos estudios se ha encontrado relación entre invasividad y la presencia de estos genes en *S. epidermidis* [230, 270].

Sin embargo, existe cierta controversia y esta cuestión no está todavía esclarecida. En otros estudios, los resultados obtenidos son diferentes y sugieren que el operón *icaADBC*, alguno de los genes que constituyen este operón y/o la producción de *biocapa* no pueden usarse como marcadores de invasividad, puesto que no encuentran diferencias de proporciones entre los diferentes grupos de aislamientos [245, 256, 259, 271-278].

Algunos autores han relacionado la posesión genes involucrados con la formación de *biocapa* con una mayor prevalencia de resistencia antibiótica en las cepas estudiadas, señalando muchos estudios en concreto a los aminoglucósidos e incluso relacionándolo con fallo terapéutico [279-284].

Así mismo se ha documentado la emergencia de cepas clínicas de estafilococos, tanto *S. epidermidis* como *S. aureus*, *biocapa* positiva *ica* negativo, lo que sugiere la emergencia de una subpoblación de *S. epidermidis*, posiblemente por la selección antibiótica en el ambiente nosocomial, que manifiestan ciertas ventajas para sobrevivir [259, 285, 286]. Estas cepas operón *icaADBC* mutantes, son capaces de seguir produciendo *biocapa*, en cantidad equivalente o superior incluso a las cepas que sí poseen el operón *ica*. Por lo tanto, existe la posibilidad que otros genes puedan codificar para la producción de componentes de la *biocapa* [244, 245, 270, 287].

La secuencia de inserción IS256 es un elemento móvil genético que ha sido descrito como componente del genoma de los estafilococos y enterococos. Inicialmente fue descrita como una región que se encontraba flanqueando el transposón Tn4001, que

INTRODUCCIÓN

codifica la resistencia a los aminoglucósidos [288], pero además de ser parte integral de este transposón también se puede encontrar esta secuencia en múltiples e independientes copias en el genoma estafilococos y enterococos [289, 290].

Aunque la regulación molecular del operón *ica* todavía no está del todo esclarecida; se ha documentado que IS256 puede estar involucrado en la fase de variación en la formación de *biocapa* en *S. epidermidis* [228, 281]. Así en aproximadamente el 30% de los variantes espontáneos *biocapa* negativo, el cambio de “on” a “off” en la formación de *biocapa* está causado por la inserción de IS256 en *icaA* o en *icaC* [228, 240, 245, 254, 291, 292].

La secuencia de inserción IS256, se ha identificado en algunos estudios como un potencial marcador molecular asociado con la formación de *biocapa* y con la presencia del operón *ica* [276, 280, 282, 293]. Algunos estudios sugieren que IS256 es un elemento característico en el genoma de *S. epidermidis* nosocomial multirresistente [280, 282]. Este aumento de resistencia es evidente en todos los grupos de antibióticos, pero es especialmente pronunciado en los aminoglucósidos [282]. Esta asociación podría explicarse por el hecho de que IS256 usualmente flanquea el transposón Tn4001, que porta genes que codifican una proteína bifuncional con actividad acetiltransferasa y fosfotransferasa que media resistencia frente a gentamicina (AAC (6’)-APH (2’’)). Sin embargo, en algunas cepas de *S. epidermidis* resistentes a gentamicina y portadoras de IS256, y genes AAC (6’)-APH (2’’) no se encontraron productos de PCR o fragmentos más pequeños que pudieran sugerir la presencia del transposón Tn4001 [280]. Por otra parte, se ha descrito que IS256 podría jugar un papel en la flexibilidad genómica y en la regulación global de la expresión genómica [294].

1.6. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LA INFECCIÓN ASOCIADA A CATÉTER

Actualmente no están establecidas las condiciones y pruebas diagnósticas más rentables en el caso de infecciones asociadas a catéter en pacientes hemodializados, por lo que se utilizan los métodos diagnósticos empleados para las infecciones de los CVC en general [112, 178, 295, 296].

El diagnóstico de las infecciones relacionadas con el catéter se basa inicialmente en la sospecha clínica ante signos locales o generales de infección y síntomas clínicos. Puesto que los hallazgos clínicos son muchas veces inespecíficos y poco sensibles para el diagnóstico de una infección relacionada con el catéter, se necesita la utilización de técnicas microbiológicas para obtener un diagnóstico de certeza [194, 297-301]. La fiebre es un hallazgo clínico muy frecuente, con elevada sensibilidad, sin embargo, presenta una especificidad muy reducida, mientras que signos locales en punto de inserción del AV o en el trayecto subcutáneo como eritema, inflamación y/o exudados purulentos muestran una elevada especificidad pero con poca sensibilidad [43, 74, 92, 107, 108, 302].

El diagnóstico microbiológico de las infecciones relacionadas con el catéter puede realizarse sobre catéteres retirados o mediante métodos conservadores, sin retirada del mismo, por lo tanto sobre el catéter insertado en el paciente. El valor predictivo de las técnicas diagnósticas empleadas dependerá del tipo de catéter, de su localización, de su longevidad y de la vía de colonización [88].

En la mayoría de los casos, el diagnóstico de infección relacionada con el catéter conlleva la decisión terapéutica de retirar el catéter [92]. Sin embargo, muchos estudios han demostrado que en más del 70% de los catéteres retirados por sospecha de infección, el cultivo fue negativo por lo que su retirada no estaba justificada [197]. Los

INTRODUCCIÓN

pacientes en HD requieren un AV permanente, y la retirada y nueva inserción de un CVC puede ocasionar serias complicaciones. Por ello, en estos pacientes, en los que la retirada del catéter puede ser una decisión comprometida, los métodos conservadores, capaces de diagnosticar una infección relacionada con el catéter sin necesidad de retirada del CVC, son preferibles a aquellos que dependen de la retirada de éste para poder diagnosticar dicha infección [205, 303].

1.6.1. PROCEDIMIENTOS DIAGNÓSTICOS SOBRE CATÉTERES RETIRADOS

1.6.1.1. CULTIVO CUALITATIVO DE LA PUNTA DEL CATÉTER

Esta técnica consiste en cortar asépticamente el extremo distal del catéter e introducirlo en un tubo con medio de cultivo líquido [304]. Es un método sencillo y muy sensible. Sin embargo, cuenta con el inconveniente de ser un método que no cuantifica el número de unidades formadoras de colonias (UFC) y por lo tanto no permite diferenciar una colonización significativa de una contaminación, ya que un único microorganismo viable puede dar lugar a un cultivo positivo tras unas horas de incubación. En el momento actual no se recomienda el uso del cultivo cualitativo como uso rutinario (Evidencia AII) [92].

1.6.1.2. CULTIVO SEMICUANTITATIVO DE LA PUNTA DEL CATÉTER

Esta técnica descrita en 1977 por Maki y cols cultiva la superficie externa de la punta del catéter [301]. La técnica consiste en rodar al menos cuatro veces sobre la superficie de una placa de agar sangre, con la ayuda de unas pinzas estériles, el segmento intravascular del catéter (3 ó 4 cm del extremo distal). Cuando en el cultivo crecen ≥ 15 UFC/segmento por placa, se considera que el catéter está colonizado. El diagnóstico de BRC se confirma sólo cuando la colonización del catéter se asocia con un cultivo positivo de sangre periférica con el mismo microorganismo [192, 204, 205, 305-309]. Este método, por su rapidez y sencillez ha sido aceptado por la mayoría de los laboratorios de microbiología y es la técnica de referencia en la actualidad (Evidencia AI) [92]. Sin embargo, tiene algunas limitaciones, ya que este método sólo detecta la colonización de la superficie externa del catéter y no hay que olvidar que el origen de las bacteriemias, puede ser endoluminal, especialmente en CVC de larga duración (≥ 30 días de permanencia), y éstas, podrían no ser diagnosticadas con este método. La sensibilidad de este método se sitúa entre un 45% y un 75% en los catéteres de larga duración [204, 205]. En los CVC de corta duración se calcula una sensibilidad y especificidad de 84% y 85%, respectivamente [206].

1.6.1.3. CULTIVO CUANTITATIVO DE LA PUNTA DEL CATÉTER

Esta técnica detecta los microorganismos de las superficies externa e interna del catéter y compara los recuentos bacterianos de dos segmentos del catéter, la punta y el segmento intradérmico o subcutáneo. Esta técnica consiste en introducir cada segmento

INTRODUCCIÓN

del catéter en 2 ml de caldo nutritivo y lavar tres veces la luz del catéter con la ayuda de una aguja y una jeringuilla. Posteriormente, se realiza el recuento del número de bacterias del caldo por siembra de 0,1 ml de las diluciones 1:10 y 1:100, sobre placas de agar sangre. Esta técnica tiene la ventaja sobre el cultivo semicuantitativo que permite conocer y cuantificar la colonización global del catéter en ambas superficies, externa e interna. Se acepta la cifra de recuentos superiores a 10^3 UFC/segmento, como el valor umbral a partir del cual un catéter se considera colonizado. Recuentos inferiores a 10^3 UFC, se consideran como posible contaminación o fase temprana de colonización. Con este criterio de positividad, la sensibilidad fue del 100% y la especificidad del 92,5% en los casos de bacteriemia. Este umbral, avalado en estudios posteriores, se considera como el más adecuado para el diagnóstico de BRC [298].

La técnica se simplifica introduciendo el segmento del catéter en un tubo con 1 ml de agua destilada estéril y tras un minuto de agitación en un vórtex, se siembran 0,1 ml de la suspensión en una placa de agar sangre. Utilizando el mismo punto de corte ($>10^3$ UFC/ml), la sensibilidad es del 97,5% y la especificidad del 88% en los catéteres de pacientes con signos clínicos de infección [310].

También se puede utilizar la sonicación para recuperar los microorganismos de la superficie (externa e interna) del catéter [205, 311]. La técnica consiste en sonicar durante un minuto la punta del catéter sumergida en 10 ml de caldo de tripticasa-soja, seguido del vorteadado de la muestra durante 15 segundos. Posteriormente se siembra 0,1 ml del caldo original, así como 0,1 ml de las diluciones 1:10 y 1:100 en placas de agar sangre. Utilizando un punto de corte de 100 UFC/ml, permite diagnosticar las infecciones relacionadas con el catéter y distinguir infección de colonización con una sensibilidad del 82% y una especificidad del 89% para CVC de corta duración y una sensibilidad del 83% y una especificidad del 97% para CVC de larga duración [206].

INTRODUCCIÓN

Una variante utilizada, del cultivo cuantitativo de la punta del catéter, para discernir el valor de ambos tipos de colonización consiste en el lavado la superficie interna de la punta del catéter con 2 ml de caldo de cultivo, sembrando 0,1 ml en una placa de agar sangre y haciendo diluciones seriadas del caldo de cultivo para contabilizar los microorganismos en la superficie interna del catéter. A continuación el catéter se siembra por el método semicuantitativo de Maki, para conocer la colonización de la superficie externa del mismo. La utilización conjunta de ambas técnicas ha permitido esclarecer las vías patogénicas de la infección asociada a catéter y tiene una sensibilidad del 100% en casos de infección relacionada con el catéter y BRC [193].

Todas las técnicas de diagnóstico de infección relacionada con el catéter descritas anteriormente, precisan de cultivos microbiológicos y, por tanto, se necesitan como mínimo de 18 a 24 horas para conocer el resultado.

1.6.1.4. TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO RÁPIDO. TINCIÓN SOBRE CATÉTERES RETIRADOS

Existen técnicas rápidas mediante tinción de la punta del catéter, pero requieren su retirada. Se han descrito diferentes técnicas que utilizan la tinción de Gram [312] y la de naranja de acridina [313]. Los catéteres, tras ser teñidos, se observan directamente al microscopio y se considera positiva la presencia de al menos un microorganismo por cada 20 campos observados con objetivo de inmersión. Las sensibilidades y especificidades obtenidas con estas técnicas fueron del 84% y 99% para la tinción de naranja de acridina y 100% y 97% respectivamente para la tinción Gram. Sin embargo, otros estudios muestran resultados menos prometedores [314]. A pesar de su rapidez diagnóstica, estas técnicas tienen los inconvenientes de exigir la retirada del catéter, y que sólo pueden llevarse a cabo sobre catéteres transparentes cuyas paredes no sean

INTRODUCCIÓN

excesivamente gruesas y mediante la utilización de microscopios especiales. Su realización no sustituye al cultivo, y además son técnicas muy laboriosas, por ello su uso no está muy extendido [206, 315].

1.6.2. PROCEDIMIENTOS DE DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO MANTENIENDO EL CATÉTER

La retirada del catéter intravascular puede ser una decisión comprometida en pacientes críticos, en niños pequeños, en pacientes con acceso difícil al espacio intravascular, y en otras circunstancias. A la anterior realidad hay que sumarle el hecho recientemente aceptado de la posibilidad de erradicar a corto o más largo plazo algunas infecciones asociadas a catéteres, permitiendo completar el periodo terapéutico programado y prolongar la vida eficiente del mismo. Por todo lo anterior, es importante la búsqueda de métodos diagnósticos de infección relacionada con el catéter que podríamos denominar como “conservadores” y que deben basarse en estrategias que no obliguen a disponer de la punta ni de fragmentos del catéter para su estudio.

1.6.2.1. CULTIVOS SUPERFICIALES SEMICUANTITATIVOS

Este método se basa en la aplicación del conocimiento de las dos vías principales de acceso de los microorganismos: la punta del catéter, la piel circundante al punto de entrada (vía extraluminal), y la conexión como vía de acceso a una progresión endoluminal (vía endoluminal). La técnica consiste en la detección de microorganismos en cualquiera de los dos puntos en recuento “significativo”.

Consiste en frotar con una torunda la piel que rodea la puerta de entrada del catéter en un área de aproximadamente 1 ó 2 cm de radio. En la conexión o conexiones

INTRODUCCIÓN

se introduce una torunda de alginato (por su menor tamaño) que se hace circular 2 ó 3 veces por el interior de la misma. Ambas torundas deben cultivarse rápidamente sobre placas de agar sangre para recuento semicuantitativo, extendiéndolas sobre el total de la superficie de las mismas. Se considera que una piel o una conexión son positivas en este recuento semicuantitativo, cuando el número de bacterias de una especie determinada por placa es ≥ 15 UFC. La sensibilidad y especificidad de esta técnica es del 97% y 68% respectivamente. Destaca el alto valor predictivo negativo (VPN) que asciende al 99% cuando tanto la piel como la conexión no alcanzan valores críticos. El valor predictivo positivo (VPP) es bajo, obteniendo entre los mejores resultados publicados entre el 61% y el 66% [192, 302]. Otros autores proponen también cultivar el primer segmento subcutáneo del catéter tras tirar hacia el exterior unos 2 cm, lo cual mejora la especificidad y el VPP (94% y 88,5%) [316].

Nielsen y cols [317] y Rosenbaum y cols [318] estudiaron el impacto y la utilidad de los cultivos de la zona externa del catéter en pacientes en HD, en CVCnt y CVCT respectivamente. Ambos concluyen que estos cultivos no sirven para predecir o prevenir las bacteriemias asociadas a catéter en los pacientes en HD, sin embargo, sí podrían tener utilidad gracias a su elevado VPN [302].

Existen pocos trabajos que hayan evaluado las tinciones de Gram de los frotis del punto de inserción en la piel y de la conexión como método rápido y a la vez conservador, en el diagnóstico de sepsis por catéter. En algunos de ellos la sensibilidad de la tinción de Gram fue del 80%, la especificidad del 82%, el VPP del 35% y el VPN del 97% [319]

Una tinción de Gram, con resultado negativo de los frotis de piel y conexión, prácticamente descartaría al catéter como origen de la infección. Aunque la tinción de Gram presenta escaso VPP, aporta información inmediata de gran utilidad en los casos

INTRODUCCIÓN

en que la tinción es positiva, ya que la visualización de morfotipos concretos puede hacer que el clínico decida modificar la pauta terapéutica del paciente. Los resultados de dichas tinciones superficiales se confirman a las 24 horas al examinar los cultivos correspondientes.

Las infecciones locales pueden estar asociadas con BRC. Sin embargo, no se puede confiar tan solo en esta correlación para identificar o predecir BRC [320, 321], ya pueden existir independientemente de una infección sistémica y viceversa [322].

1.6.2.2. CULTIVOS Y TINCIONES DE SANGRE ASPIRADA A TRAVÉS DEL CATÉTER

Estos métodos están basados en la búsqueda de bacterias en la sangre aspirada por un catéter supuestamente infectado, bien realizando tinciones de preparaciones de la misma o realizando cultivos que son comparados con los tomados de sangre periférica no obtenida por el catéter.

1.6.2.2.1. TINCIÓN DE LA CAPA LEUCOCITARIA DE SANGRE EXTRAÍDA A TRAVÉS DEL CATÉTER

La técnica consiste en aspirar una muestra de 1 ml de sangre a través del catéter cuyos hematíes se someten a lisis con suero salino hipotónico. Los leucocitos se sedimentan por centrifugación y se prepara una capa rica en los mismos mediante citocentrifugación. Las preparaciones se tiñen con naranja de acridina y se examinan al microscopio de fluorescencia [323-327]. Se considera la prueba positiva cuando se observan bacterias. En este caso, la segunda preparación se tiñe con tinción de Gram para caracterizar de qué tipo de bacterias se trata. La sensibilidad y especificidad

INTRODUCCIÓN

publicadas han sido de 87% y 94% respectivamente [323]. La técnica es sencilla, económica y se realiza en menos de 30 minutos.

1.6.2.2.2. CULTIVOS CUANTITATIVOS DE SANGRE ASPIRADA A TRAVÉS DEL CATÉTER

Un recuento >100 UFC/ml en sangre obtenida del catéter en presencia de un HC cualitativo positivo para el mismo microorganismo en sangre periférica es el punto de corte requerido para diagnóstico de BRC mediante esta técnica [328, 329]. La mayor ventaja de la técnica cuantitativa, realizada mediante el procedimiento de lisis centrifugación, es que permite el diagnóstico de certeza de la BRC, en el caso de HC positivos, y evita la retirada innecesaria del catéter, en aquellos casos con HC negativos. Su mayor problema es que requiere la existencia de un reflujo de sangre adecuado. Por otra parte, se trata de un procedimiento muy laborioso y relativamente caro. Los HC de lisis-centrifugación requieren una atención inmediata por parte del microbiólogo lo que los hace poco viables en instituciones que no pueden disponer de este servicio 24 horas diarias.

1.6.2.2.3. CULTIVOS CUANTITATIVOS SIMULTÁNEOS

Los cultivos cuantitativos de sangre, se basan en que el número de UFC/ml de bacterias, obtenidas de la sangre a través de un catéter infectado es mayor que el número de UFC/ml en la sangre extraída por una vena periférica del mismo paciente. Aunque hay varias técnicas disponibles para realizar este método diagnóstico, una de más ampliamente usadas consiste en extraer 10 ml de sangre e introducirlas en un tubo isolator (isolator 10, Wampole, Granbury, NJ, USA) para un cultivo cuantitativo por lisis centrifugación [330]. Diferentes estudios han documentado diferentes puntos de

INTRODUCCIÓN

corte para el diagnóstico de BRC, desde un cociente dos veces superior hasta 10 veces superior [328, 329, 331-334]. Las guías de la Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas (IDSA) [92] aceptaron como punto de corte un recuento de colonias al menos 5 veces superior en la sangre obtenida a través del CVC en comparación con la obtenida por vena periférica. Éste es uno de los métodos más precisos para el diagnóstico de BRC [206], contando con una sensibilidad y especificidad para catéteres de corta duración de 75% y 97% respectivamente, y para catéteres de larga duración de 93% y 100% respectivamente. Una limitación de este tipo de cultivos es que el procedimiento es muy laborioso y, por otra parte, relativamente caro.

1.6.2.2.3.1. CULTIVOS SIMULTÁNEOS BASADOS EN EL TIEMPO DIFERENCIAL DE POSITIVIDAD

Esta técnica está basada en la velocidad de crecimiento de HC cualitativos obtenidos simultáneamente a través de la luz del catéter y por una vena periférica [296, 297, 335-341]. Esta técnica utiliza la ventaja de los nuevos sistemas automatizados para el procesamiento de HC que determinan el tiempo transcurrido desde el inicio de la incubación de los frascos hasta el momento en que se detecta crecimiento significativo. Teóricamente, los HC que parten de un mayor inóculo bacteriano, los sembrados con sangre obtenida por la luz del catéter, deben tener tiempos de crecimiento más rápido que los inoculados con sangre periférica en los casos de BRC. Las diferencias en tiempo de crecimiento, por lo tanto, entre HC simultáneamente tomados a través del catéter y a través de una vía periférica pueden orientar sobre el origen de la bacteriemia. Muchos estudios indican que el diagnóstico de BRC se establece cuando el HC procedente del CVC se positiviza al menos 120 minutos antes que el que procede de vena periférica

INTRODUCCIÓN

[297, 335, 336]. El método permite el uso de HC ordinarios cualitativos y no requiere maniobras especiales en el laboratorio para su procesamiento. La sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de BRC es de un 89% y de un 87% respectivamente en catéteres de corta duración, y de un 90% y un 72% respectivamente en catéteres de larga duración [206]. Este método ha sido propuesto para el uso rutinario en los hospitales que dispongan de sistemas automatizados para la detección de bacteriemia.

1.6.2.2.4. CEPILLADO INTRALUMINAL

Esta técnica se basa en la introducción de un pequeño cepillo montado sobre una guía metálica, capaz de poder progresar hasta la punta del catéter, arrastrar la *biocapa*, y poder estudiar las bacterias incorporadas al cepillo [342]. Tras su retirada el cepillo se incorpora a un contenedor que contiene un tampón fosfato salino (PBS). Se realiza sonicación, agitación mediante un vórtex, y alícuotas de las muestras se siembran cuantitativamente en placas de cultivo de agar sangre. La sensibilidad y especificidad es 95% y 84% respectivamente [203, 324]. Este método no ha sido incorporado a la rutina del diagnóstico por ser difícil de practicar, ya que es preciso disponer de cepillos con guías metálicas de distintos tamaños para adaptarse a cada tipo de catéteres y calcular bien la parte a introducir. En segundo lugar, en catéteres cuyas luces tienen una salida lateral no es fácil alcanzar el extremo. Además, es un procedimiento caro, que conlleva riesgos, ya que existe también la posibilidad de arritmias cardíacas, embolización, e inducción de bacteriemia secundaria al procedimiento [206, 315, 343].

1.7. MANEJO Y TRATAMIENTO DE LAS INFECCIONES ASOCIADAS A CATÉTER EN PACIENTES EN HEMODIÁLISIS

El manejo de las infecciones varía en función de la gravedad de la infección, la necesidad de mantener el catéter, y del tipo de catéter (tunelizado o no tunelizado) [72].

NORMAS DE ACTUACIÓN [92, 344, 345]

- Ante la aparición de fiebre en un paciente portador de CVC, deben extraerse HC de sangre periférica y de ambas ramas del catéter. Las extracciones deben ser simultáneas y cultivarse mediante técnicas cuantitativas si es posible.
- Las muestras de sangre periférica deben ser obtenidas de venas que no se vayan a usar para creación de futuras FAV (Evidencia A-III).
- Si la muestra de sangre de vía periférica no puede obtenerse, se tomará durante la HD de las líneas conectadas al circuito.
- El catéter debe ser retirado inmediatamente si existe shock séptico, bacteriemia con descompensación hemodinámica o no controlada en 48-72 horas, infección supurada del punto de entrada, tunelitis asociada a fiebre, tromboflebitis séptica y/o complicaciones infecciosas a distancia, como endocarditis o osteomielitis así como la presencia de fiebre persistente durante más de 48 horas a pesar de tratamiento empírico de amplio espectro.
- La presencia de fiebre de origen desconocido no justifica la retirada sistemática del CVC en los pacientes en HD.
- El catéter infectado debe ser siempre retirado en los pacientes en HD si la BRC es causada por *S. aureus*, *Pseudomonas* spp., *Candida* spp. o microorganismos resistentes.

INTRODUCCIÓN

- Si no existen alternativas en cuanto al lugar de inserción se cambiará el catéter infectado por otro mediante guía, tras 3 días de tratamiento antibiótico satisfactorio (Evidencia B-II).
- El recambio de los catéteres vasculares, en caso necesario, se hará según las normas de actuación establecidas.
- Cuando se retira un catéter, la inserción de uno nuevo debe realizarse una vez obtenidos HC negativos (Evidencia B-III).
- Los catéteres temporales (no tunelizados) deben ser insertados en un lugar anatómico diferente (Evidencia A-II).
- Si tras el inicio de la terapia antibiótica desaparecen los síntomas de sepsis y no existe infección metastásica, el catéter infectado puede cambiarse por uno nuevo mediante guía (Evidencia B-II).
- El tratamiento conservador sin retirada del catéter es aceptable en CVCt infectados por microorganismos diferentes a los citados anteriormente, como por ejemplo ECN o BGN diferentes de *Pseudomonas* spp. Ha de usarse antibioterapia sistémica asociada a sellado intraluminal del catéter con antibióticos adecuados El sellado intraluminal con antibióticos no asociado a terapia sistémica no es efectivo. Si los síntomas persisten o si existiera evidencia de infección metastásica, el catéter debe ser retirado (Evidencia B-II).
- En los casos de infección grave o cuando no se retira el catéter, ha de iniciarse antibioterapia empírica a la espera de resultados microbiológicos.

1.7.1. ANTIBIOTERAPIA EN EL TRATAMIENTO DE INFECCIONES ASOCIADAS A CATÉTER

La utilización de agentes antimicrobianos en el tratamiento de las infecciones de catéter en pacientes en HD es similar a las infecciones de otros CVC [47, 74, 112, 178, 180, 183, 346]. Algunas recomendaciones específicas son [76-78, 81, 82, 91, 92, 178]:

- Se recomienda iniciar el tratamiento por vía endovenosa y pasar a vía oral cuando se consiga la estabilidad clínica y la apirexia, siempre que existan alternativas con buena biodisponibilidad.
- No existen datos concluyentes respecto a la duración del tratamiento. Se acepta entre 7 y 10 días (máximo 15 días) cuando no existan complicaciones de la infección, la respuesta clínica sea favorable, y no exista valvulopatía ni material protésico susceptible de colonizarse a distancia.
- Si se ha retirado el catéter infectado, y no existen indicaciones de tratamiento empírico, debe demorarse el inicio del tratamiento hasta conocer el microorganismo causante de la infección. A menudo no es necesario ningún tratamiento.
- Está indicado el inicio de tratamiento empírico en caso de: sepsis grave y/o shock, inestabilidad clínica con fracaso orgánico, signos locales de infección supurada, neutropenia, inmunosupresión grave, cardiopatía valvular o prótesis endovasculares.
- Para iniciar un tratamiento empírico es importante conocer la incidencia local de microorganismos y su sensibilidad antibacteriana o antifúngica.
- La terapia empírica debe basarse en el patrón local de resistencias (Evidencia A-II).

INTRODUCCIÓN

- La vancomicina es el tratamiento empírico de elección en pacientes en HD y con sospecha de BRC, si la situación clínica es estable. En caso de sepsis grave o *shock* séptico, se debe asociar antibioterapia para gram negativos dada la prevalencia de infecciones por *P. aeruginosa* en estos pacientes.
- Estaría indicado como tratamiento empírico la utilización de antibióticos de amplio espectro (para bacterias gram positivas y gram negativas) como podría ser la asociación de un glucopéptido y un aminoglucósido o aztreonam.
- En todos los pacientes con infección debida a *Candida* spp. debe retirarse el catéter y administrar tratamiento antifúngico durante 14 días después de que la fungemia haya sido aclarada. Las infecciones complicadas requieren tratamiento antimicrobiano más prolongado y la retirada del CVC dependiendo del lugar de la metástasis séptica.
- No se debe utilizar vancomicina para el tratamiento de *S. aureus* sensible a meticilina por el riesgo de seleccionar microorganismos resistentes a vancomicina y por la menor penetración que las penicilinas antiestafilocócicas.
- Si se conserva el catéter se recomienda realizar además del tratamiento sistémico, el tratamiento local del catéter o sellado del catéter (*antibiotic-lock*). Esta técnica consiste en la adición de antibióticos a la solución anticoagulante que se aplica tras el uso del catéter hasta su próxima utilización, consiguiéndose una concentración de antibiótico 50-100 veces la concentración mínima inhibitoria (CMI) del microorganismo potencialmente responsable de la infección del catéter (punto desarrollado más ampliamente en el apartado 1.8.1).
- En el caso de que la bacteriemia sea causada por ECN y no existan complicaciones, puede tratarse la bacteriemia sin la retirada del catéter, pero

INTRODUCCIÓN

además del tratamiento sistémico durante 7 días, se realizará tratamiento con sellado del catéter durante 14 días.

- Cuando la infección del catéter sea por *S. aureus*, además del tratamiento antibiótico intravenoso y la retirada del catéter deberá realizarse el cultivo de las fosas nasales buscando en esa localización *S. aureus*, y si el paciente es portador de *S. aureus* se tratará con mupirocina nasal al 2% durante 7 días.
- La elección del tratamiento antimicrobiano etiológico específico de las infecciones relacionadas con los catéteres se desarrolla en la tabla 4.
- Una vez obtenida la sensibilidad antibiótica de los aislados, se debe realizar el “desescalado” respecto a la cobertura antibiótica empírica establecida (Evidencia A-II).

No hay que olvidar que la causa más frecuente de infección de los pacientes en HD son los ECN. La prevalencia de ECN resistentes a metilina en las infecciones adquiridas en hospital ha aumentado durante la última década, así como las infecciones adquiridas en la comunidad en pacientes sin riesgo claro [347]. Garret y cols detectaron y caracterizaron aislamientos de ECN con sensibilidad disminuida a vancomicina [348] y Sieraki y cols detectaron cepas resistentes a dicho antibiótico [349]. Los fallos en el tratamiento con vancomicina han sido descritos en Japón y en EE.UU. [350]. En un estudio de vigilancia desarrollado en Francia encontraron que el 23% de 362 cepas de ECN presentaban resistencia intermedia a teicoplanina. El 74% de las cepas resistentes fueron identificadas como *S. epidermidis* y el 19% como *S. haemolyticus* [348, 351].

Para realizar un adecuado tratamiento de los episodios de infección, se debe realizar un apropiado tratamiento de la bacteriemia y esterilización del catéter [352]. El sellado de la luz del catéter con sustancias antimicrobianas se ha evaluado en diferentes trabajos con la finalidad de ayudar en la esterilización del catéter, que sólo con el

INTRODUCCIÓN

tratamiento sistémico es mucho menos probable de conseguir [130, 182-184, 353-359].

El sellado con antibióticos unido al tratamiento sistémico de los episodios de BRC obtiene mayores porcentajes de éxito.

Tabla 4. Tratamiento antibiótico en la BRC en pacientes en HD [1].

Microorganismo	Tratamiento sistémico	Sellado de catéter
Tratamiento empírico	Vancomicina 1 g/4-7 días o teicoplanina 6 mg/kg/72 h + Betalactámico iv.	Vancomicina 5-10 mg/ml o teicoplanina 5-10 mg/ml
<i>Staphylococcus aureus</i> o ECN		
Sensibles a la meticilina	Cloxacilina 2 g/4 h iv.	Vancomicina 5-10 mg/ml o teicoplanina 5-10 mg/ml
Resistentes a meticilina	Vancomicina 1 g/4-7 días o teicoplanina 6 mg/kg/72 h o daptomicina 6 mg/kg/48 h o linezolid 600 mg/12 h	Vancomicina 5-10 mg/ml o teicoplanina 5-10 mg/ml o linezolid o daptomicina
<i>Enterococcus spp.</i>		
Sensibles a ampicilina	Ampicilina 2 g/12-24 h iv. (dosis tras diálisis) + gentamicina 2 mg/kg/72 h (dosis tras diálisis)	Teicoplanina 5-10 mg/ml o vancomicina 5-10 mg/ml
Resistentes a ampicilina	Vancomicina 1 g/4-7 días o teicoplanina 6 mg/kg/72 h + gentamicina 2 mg/kg/72h (dosis tras diálisis)	Vancomicina 5-10 mg/ml o teicoplanina 5-10 mg/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Piperacilina-tazobactam 2 g/8 h (1g tras diálisis) o ceftazidima 2g/48 h (1g tras diálisis) o cefepima 1 g/24 h (1g tras diálisis) o imipenem 125-250 mg/12h (dosis tras diálisis) o meropenem 500 mg/24h (dosis tras diálisis) o ciprofloxacino 400 mg/12 h i.v. + tobramicina 2 mg/kg/72 h (dosis tras diálisis) o amikacina 3 mg/kg/72 h (dosis tras diálisis)	Amikacina 10 mg/ml o ceftazidima 5-10 mg/ml o cefepime 5-10 mg/ml
<i>Enterobacter spp.</i>	Imipenem 125-250 mg/12 h (dosis tras diálisis) o meropenem 500 mg/24 h (dosis tras diálisis) o levofloxacino 1ª dosis de 500 mg/día iv. y después 250 mg/48 h i.v. o ciprofloxacino 200 mg/12 h iv.	Amikacina 5-10 mg/ml o ciprofloxacino 5-10 mg/ml
<i>Candida spp.</i>	Fluconazol 100-200 mg/día (100% de dosis recomendada tras diálisis) o caspofungina o anfotericina B liposomal según sensibilidad	Anfotericina B desoxicolato 2,5 mg/ml

iv.: intravenoso.

1.7.2. FRACASO TERAPEÚTICO

El porcentaje de éxito de conservar el catéter usando solamente antibiótico sistémico, se encuentra entre el 22% y el 37% [54, 72, 173, 360, 361]. El porcentaje es considerablemente mayor cuando se asocia sellado antibiótico, los porcentajes se sitúan entre el 33% y el 100% [182, 183, 353, 357, 362, 363]. El éxito de la conservación del catéter también depende del tipo de microorganismo implicado. En los gram negativos y ECN el porcentaje de éxito se sitúa normalmente entre un 75% y 100%, aunque en algún estudio se han registrado porcentajes asociados a los gram negativos menores [357]. Mientras que en los catéteres infectados por *S. aureus* este porcentaje desciende hasta encontrarse entre un 40% y un 54% [182, 362]. En *Enterococcus* spp. el porcentaje de éxito se sitúa en torno al 60% [364]. Las infecciones polimicrobianas están asociadas a mayores fracasos del tratamiento [54].

Las tasas de BRC recurrentes sobre el mismo catéter que sufrió la infección primaria, varían normalmente entre un 12% y un 66% en los CVCT. El intento de salvar el catéter, por sí mismo, se asocia a un mayor fracaso del tratamiento [54, 72, 128, 129]. Se han descrito porcentajes elevados de fracaso terapéutico en los CVCT que intentan salvarse en algunas series, desde el 26% hasta incluso el 65% [128]. Como predictor de fracaso terapéutico, Mokrzycki y cols [128] encontraron que la no retirada del CVCT se comporta como factor de riesgo independiente, con un OR de 4,2 ($p=0,002$). También depende del microorganismo aislado, en el caso de *S. aureus* el OR fue de 3,3 ($p=0,02$). En el estudio de Raad y cols el 80% de las BRC producidas por ECN se trataron con éxito con glucopéptidos (vancomicina) sin necesidad de retirar el catéter; sin embargo, el 20% de ellas recurrieron [365]. La razón del fracaso terapéutico en el intento de salvar el catéter y la recurrencia de la infección, se debe a la formación de la *biocapa* sobre la superficie del catéter [170]. Se ha demostrado que las bacterias embebidas en

INTRODUCCIÓN

esta *biocapa* sobreviven tras estar expuestas a concentraciones sustancialmente más elevadas que las concentraciones mínimas inhibitorias [213].

El intento de salvar el CVCt es una práctica habitual en HD, aunque existen recomendaciones contrarias [366]. Los nefrólogos, deben intentarlo en la mayoría de las ocasiones, puesto que los AV son críticos en muchas ocasiones, y deben intentar salvar dicho AV y no interrumpir la programación de HD. Además, si se consigue, entre otros beneficios, se asocia a menores costes [128, 367].

En ocasiones no es posible realizar el tratamiento del CVC in situ por las circunstancias del paciente o se produce fracaso de dicho intento, en otras además no es posible cambiarlo mediante una guía. La necesidad de retirar el CVC y reemplazarlo después de un período de tiempo, ocurre entre un 6% [54] y un 39% [47, 72] de las ocasiones. Desde el punto de vista del control y manejo de la infección, es la estrategia más conservadora, pero tiene desventajas como que requieren procedimientos invasivos, con costes, complicaciones (5%-10%) e inconvenientes asociados [59, 165]. Interesantemente, la conservación del CVC con terapia de sellado intraluminal del catéter con antibióticos, mostró un período equivalente o superior libre de infección, comparado con la inmediata retirada y reinserción dilatada en el tiempo [182].

1.8. PREVENCIÓN DE LA INFECCIÓN RELACIONADA CON EL CATÉTER EN PACIENTES EN HEMODIÁLISIS

Las estrategias de prevención que ayudan a disminuir las tasas de infección en los pacientes sometidos a HD se basan de forma global en el correcto cumplimiento de las medidas generales de asepsia durante la inserción, el mantenimiento de las vías vasculares, el meticuloso cuidado de la zona externa y la utilización de las soluciones de sellado antibiótico [43, 368].

INTRODUCCIÓN

Algunas medidas y recomendaciones generales se han asociado con una disminución en las infecciones relacionadas con el catéter en pacientes en HD [43, 63, 369]; estas son:

- En la inserción y manipulación se deben emplear las medidas de asepsia recomendadas y óptima preparación de la zona en el momento de la inserción. Las maniobras de conexión y desconexión se realizarán bajo medidas universales de asepsia [370].
- Localización del catéter. No existen recomendaciones en población general sobre la preferencia del lugar de inserción para minimizar el riesgo de infección en los CVCt. En las últimas recomendaciones esta cuestión no está resuelta. Sí se señala que se debe evitar localización subclavia en pacientes en HD a fin de evitar estenosis en vena subclavia (Evidencia I-A) [52]. Publicaciones anteriores, señalan que la localización del catéter es preferible en vena yugular que en vena femoral [53], incluso preferible en yugular derecha sobre izquierda [344]. En el caso de catéteres transitorios hay que evitar utilizarlos en localización yugular durante por periodos superiores a dos semanas (en femoral, menos de una semana).
- La efectividad del uso de antibióticos de manera profiláctica en el momento de la inserción del catéter no se encuentra totalmente definida actualmente [43], aunque las últimas guías recomiendan no administrar terapia profiláctica antibiótica de manera sistemática antes de la inserción para prevenir la colonización (Evidencia I-B) [52]. No se ha documentado beneficio en el uso de terapia antibiótica sistémica perioperatoria [371].
- No se debe utilizar profilaxis antimicrobiana sistémica durante el uso de catéteres vasculares.

INTRODUCCIÓN

- Los cuidados de la piel cercana al catéter son esenciales. Un buen cuidado de la piel es prioritario sobre cualquier uso de antisépticos.
- En los catéteres tunelizados no se debe administrar pomada antiséptica en el rodete de dacrón ya que no ha demostrado disminuir la incidencia de infecciones, y a menudo disminuye la adherencia. Sí que es conveniente humedecerlo en solución salina antes de su inserción.
- Aunque la aplicación de pomadas antibióticas en el lugar de inserción del catéter ha demostrado su utilidad en la prevención de BRC e infecciones del lugar de inserción, no es recomendable su uso rutinario [371-373]. No se recomienda el empleo de pomadas antisépticas ni antibióticas, ni soluciones alcohólicas en el orificio de salida, ni los apósitos no transpirables. Se podría usar povidona iodada o pomada de bacitracina/gramicina/polymixina B al término de cada sesión de HD si dichas pomadas no interaccionan con el material de CVC según las recomendaciones del fabricante (Evidencia I-B) [52].
- Hasta la cicatrización de la zona de inserción del catéter, se pueden usar pomadas antibióticas [374].
- La aplicación de pomadas antibióticas puede desencadenar el desarrollo de resistencias, como se ha documentado en el caso de la mupirocina, usada tanto en aplicación sobre lugar de inserción como en fosas nasales [375-377].
- Tampoco son de utilidad los cultivos rutinarios de piel ni del orificio cutáneo del catéter por su bajo nivel predictivo positivo en ausencia de supuración [105, 204].
- La erradicación de *S. aureus* en los portadores nasales previene de posteriores infecciones por dicho microorganismo en los pacientes crónicos en programa de diálisis, por lo tanto se han de implantar medidas de intervención para erradicar

INTRODUCCIÓN

el estado de portador crónico de *S. aureus* en los pacientes en HD crónica [74, 369].

- La mupirocina intranasal es una terapia efectiva para la eliminación de los portadores nasales de *S. aureus* y disminuye el riesgo de bacteriemia en comparación con los pacientes portadores nasales de esta bacteria.
- En la actualidad, se está ensayando el empleo de catéteres impregnados con plata, antibióticos o antisépticos con distintos resultados y sin conclusiones definitivas en la prevención de la infección del catéter en este tipo de pacientes [47], pareciendo no ser beneficiosos en pacientes en HD [371].
- Deben cultivarse los catéteres retirados por sospecha de infección. En este caso los cultivos deben ser cuantitativos o semicuantitativos del extremo del catéter [53, 74, 105, 204, 205, 328].
- El sellado de las luces del catéter con soluciones antimicrobianas no debe usarse de forma rutinaria. Su precio es muy superior al de la heparina y no se dispone por el momento de estudios aleatorizados que apoyen su uso [47, 378-380].
- El sellado de las luces del catéter con soluciones antimicrobianas puede realizarse en pacientes con historia de múltiples BRC (Evidencia II) [52].
- El catéter para diálisis no debe ser usado para administrar medicación o extracción muestras sanguíneas.
- Únicamente el personal de diálisis deberá manipular el catéter.
- Cuando deje de ser necesario, el catéter debe retirarse.

Los programas de educación no se deben subestimar en absoluto. Sherertz y col documentaron como un programa educacional para los médicos en formación podía reducir el riesgo de BRC [157]. Tan sólo un día de curso de prácticas de control de

INTRODUCCIÓN

infección y sobre procedimientos de inserción de AV mostró una reducción en las tasas de infección de un 27%, de 3,3 a 2,4 episodios por 1.000 días de catéter [157]. Incluso se han registrado reducciones del 67%, de 6,6 a 2,3 episodios de BRC por 1.000 días de catéter después de la introducción de programas educativos [158, 159].

En un estudio realizado integrando 108 UCI, con un total de 375.757 catéteres-día, evaluaron el beneficio de la introducción de 5 técnicas asépticas altamente recomendadas en las guías CDC [381], entre ellas se incluía enfatizar en la apropiada higiene de manos. Se produjo una reducción desde 7,7 a 1,4 episodios de BRC por 1.000 días de catéter durante 18 meses de seguimiento ($p<0,002$) [382].

En el intento de evitar o reducir la colonización de la superficie de los catéteres se ha impulsado la investigación en nuevos materiales, en la modificación de los polímeros de los que están fabricados [383], y en catéteres recubiertos o impregnados con sustancias antimicrobianas y/o antisépticos, como por ejemplo clorhexidina, sulfadiazina argéntica, minociclina, rifampicina o vancomicina [384-387]. Respecto a la utilización de este tipo de catéteres, algunos estudios no muestran reducción en las tasa de BRC usando este tipo de catéteres [385, 386, 388]. Por otra parte, se han descrito muertes por anafilaxia que podrían estar relacionadas con la utilización de CVC recubiertos con dichas sustancias [389, 390]. Además, algunos de estos catéteres sólo se recubren por fuera, no en el interior del CVC, y la actividad antimicrobiana tiene una efectividad que se va perdiendo, por lo tanto no existe mucho beneficio en catéteres que permanecen implantados más de 3 semanas, como es el caso de los CVC que se utilizan para HD. Un metaanálisis en el que se incluyeron 12 estudios, mostró que utilizando CVC impregnados en la superficie externa con sulfadiazina argéntica y clorhexidina, las tasas de BRC se reducían, pero sólo si el catéter era utilizado durante un período inferior a 2 semanas [391]. Estos estudios están más enfocados a catéteres de corta duración y

INTRODUCCIÓN

no de HD, por lo tanto, para valorar su eficacia se necesitarían más estudios y hasta la fecha no existe una clara recomendación sobre la utilización de este tipo de catéteres.

Otra línea de investigación en la prevención del crecimiento microbiano en la superficie de los catéteres son los inhibidores de los mensajeros químicos [238, 392-396]. Se han identificado productos implicados en la regulación de la formación de *biocapa* que se encuentra en la superficie de los CVC colonizados [254]. Bloqueando la expresión de estos productos, se podría prevenir la adherencia de los microorganismos a la superficie del catéter.

1.8.1. PREVENCIÓN DE LA INFECCIÓN RELACIONADA CON EL CATÉTER MEDIANTE SOLUCIONES DE SELLADO CON ANTIMICROBIANOS O ANTISÉPTICOS

Desde la inserción del catéter, éste se recubre de material rico en proteínas del suero del paciente como fibrina, fibrinógeno, fibronectina, laminina, etc., que facilita la adherencia de los microorganismos al catéter. En un corto período de tiempo, se ha demostrado que muchos catéteres se colonizan uniformemente con la *biocapa* microbiana [88, 95, 198-201]. Los microorganismos embebidos en esta capa, que recubre la superficie del catéter, pueden llegar a ser la fuente de infección produciendo una BRC. Además, la naturaleza estructural y las características fisiológicas intrínsecas de los microorganismos que forman parte de esta *biocapa*, así como los depósitos de las sustancias que quedan unidas a la superficie del catéter, por ejemplo, la fibrina, [43, 397, 398] confieren una elevada resistencia frente al propio sistema inmune del paciente, y frente a los agentes antimicrobianos, siendo necesario usar en ocasiones concentraciones entre 100 y 1.000 veces superior a cuando se utilizan para tratar microorganismos que se encuentran en crecimiento planctónico [187, 212-214]. Esto se

INTRODUCCIÓN

traduce en mayor probabilidad de fracaso del tratamiento instaurado y recidivas [223, 224]. Como ya se ha mencionado anteriormente, la presencia de un cuerpo extraño en el organismo, como puede ser un catéter, es un sustrato ideal para la colonización de los microorganismos [190].

La técnica de sellado del catéter con antimicrobianos consiste en instilar dentro de la luz del catéter unos 2 ml de antimicrobiano, normalmente mezclados con un anticoagulante, y dejarlos permanecer en dicha luz durante un cierto periodo de tiempo para lograr limitar la formación de *biocapa* y reducir o eliminar la colonización del catéter o la propia infección [399-401].

Algunos antibióticos que se han utilizado en las soluciones de sellado son: vancomicina, gentamicina, ciprofloxacino, minociclina, amikacina, cefazolina, cefotaxima, y ceftazidima. También se han utilizado sustancias antitrombóticas, antisépticas o/y quelantes como heparina, EDTA, alcohol, taurolidina o citrato [52]. El uso del sellado del catéter con antimicrobianos para la prevención de las BRC ha sido evaluado en muchos estudios, mostrando su eficacia en la reducción de estas infecciones, evitando por lo tanto retiradas de catéteres debidas complicaciones asociadas a dicha infección, aumentando la longevidad del catéter, ayudando a preservar los AV tan críticos en los pacientes sometidos a HD [89, 96, 172, 187, 356, 372, 380, 402-421]. Así mismo disminuye la morbi-mortalidad asociada, la incidencia de hospitalización y los costes asociados a ella [172, 372, 404, 407-409, 415, 418].

Existen estudios realizados en la población de pacientes en HD [73, 172, 406-410, 414-416, 418-420, 422-424]. Existen metaanálisis que han demostrado que esta estrategia reduce la tasa de BRC en los pacientes en HD [371, 378, 380, 412, 425]. Sin embargo, hasta la fecha no existe un consenso disponible en la práctica clínica respecto al uso de estas soluciones en la prevención de las BRC, y no son universalmente

INTRODUCCIÓN

recomendadas [9, 21, 344, 381]. La razón principal por la cual no son recomendadas para su uso rutinario es el posible desarrollo de resistencia, la posibilidad de emergencia de aislados resistentes a ciertos antimicrobianos y la consecuente pérdida de eficacia frente a dichos antimicrobianos, así como la selección de microorganismos resistentes [216, 378, 381, 426].

Aunque en la mayoría de los estudios no se revela la aparición de microorganismos resistentes, pocos estudios incluyen monitorización de resistencia a antibióticos, y aquellos que lo hacen, el período de seguimiento es corto, necesitando períodos más prolongados para evaluar el desarrollo de dicha resistencia [403, 410, 412, 427, 428]. El período de observación en la mayoría de los estudios o ensayos clínicos, oscila alrededor de un año, período demasiado corto para dilucidar la respuesta a la cuestión relacionada con el desarrollo de resistencia antibiótica, que emerge en años, más que en meses [403, 412], no pudiendo descartar el comienzo de efectos adversos o resistencia antimicrobiana con un uso más prolongado.

Otra limitación a la que está sujeta el uso de antimicrobianos en las soluciones de sellado antibiótico, es la posibilidad de desarrollo de efectos colaterales como toxicidad o reacciones alérgicas y sensibilización. En la mayoría de los estudios no se han registrado efectos adversos colaterales [172, 404, 406, 410, 411, 418, 419]. En el caso particular del uso de aminoglucósidos, aunque existen muchos estudios que no documentan ningún efecto de toxicidad relacionado, sí se han registrado casos de ototoxicidad [415, 423, 429, 430]. Si bien es cierto que estos efectos adversos parecen disminuir o desaparecer cuando se usan concentraciones inferiores [408, 418]. Se han documentado también en caso de infusión rápida de soluciones concentradas, casos de hipocalcemia, arritmias, e incluso muerte [52, 344], así como mayor tasa de trombosis [422] y sangrado [414].

INTRODUCCIÓN

Además, no existen formulaciones aprobadas por la FDA, y la mayoría de las formulaciones se preparan en las farmacias del hospital o en las unidades y su precio es superior al de la heparina [47, 378-380]. Hay que añadir que en la mayoría de los estudios el aumento de la longevidad del CVC está documentado para CVC en períodos de corta duración [372, 427].

Por lo tanto, la posibilidad de desarrollo de resistencias, efectos secundarios asociados al uso de estas sustancias, la amplia variedad de compuestos usados, la heterogeneidad de las poblaciones estudiadas, limitaciones en el diseño y duración de los estudios, entre otros, impiden a día de hoy una recomendación general [52, 344].

En ningún caso, el uso de soluciones de sellado antibiótico debe reemplazar a las adecuadas prácticas de higiene, cuidado y manejo del catéter [52, 344].

1.9. PREVENCIÓN DEL DESARROLLO DE RESISTENCIAS

Existen cuatro principales estrategias para prevenir el desarrollo de resistencia antimicrobiana [427]:

- Prevención de la infección. Si la infección no se produce, la necesidad de agentes antimicrobianos, así como la presión de selección que surge como consecuencia de su uso y resistencia, decrecerían.
- Diagnóstico y tratamiento de la infección efectivos. La rápida identificación y tratamiento podría reducir o eliminar la carga bacteriana, con la consiguiente tendencia a minimizar la necesidad de antimicrobiano.
- Uso de los antimicrobianos sabiamente. Con frecuencia los agentes antimicrobianos son usados inapropiadamente. Debe existir una buena adherencia a las recomendaciones para efectuar un uso adecuado de ellos

INTRODUCCIÓN

unido al esfuerzo que se debe realizar para controlar el desarrollo y diseminación de microorganismos resistentes.

- Prevenir la transmisión. Así se puede limitar la diseminación de cepas resistentes.

La prevención del desarrollo de resistencia, es especialmente importante en los pacientes sometidos a HD, ya que esta población de pacientes en concreto, ha contribuido sustancialmente en la emergencia y diseminación de patógenos resistentes a los antimicrobianos [431]. El primer aislado de enterococo vancomicina resistente y el primer ECN resistente a vancomicina fueron aislados en pacientes sometidos a diálisis [432, 433]. También se encontraron en esta población aislados de *S. aureus* con sensibilidad disminuida a la vancomicina y elevada resistencia al linezolid [434, 435]. En julio de 2002 se documenta el primer aislamiento de *S. aureus* resistente a la vancomicina, cultivado en una muestra de una infección relacionada con el catéter de la zona externa en un paciente en HD [436].

***JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y
OBJETIVOS***

2. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Los catéteres venosos centrales a veces son la única opción para realizar la HD a un paciente y en cualquier caso condicionan la supervivencia del mismo.

Las causas más importantes que influyen en la retirada del catéter son la disfunción y las infecciones. Se estima que el porcentaje de retirada de catéter por disfunción oscila entre un 4% y 28% [437]. Sin embargo la infección relacionada con el catéter es la complicación más frecuente y grave de los CVC. Suele ser la causa principal de retirada del catéter, produce una elevada morbilidad y aunque la mortalidad directa no sea alta, supone la pérdida de un acceso vascular en pacientes que, en general, no tienen muchas más posibilidades de acceso para diálisis, además de diversas complicaciones asociadas como osteomielitis, endocarditis y muerte [180, 372].

Hoy en día no existe un método validado concreto que detecte el desarrollo de colonización endoluminal en el CVC, detectando la BRC en sus estadios más tempranos o incluso antes de que se desarrolle, evitando por tanto la causa principal de retirada del los CVC en la población de pacientes sometidos a HD. Por otra parte, la generalización del uso preventivo del sellado del catéter con antibióticos no es una recomendación universal [52], pero ha demostrado su utilidad en el tratamiento del las BRC y se podría usar como coadyuvante en la esterilización del catéter en los episodios de BRC.

El desarrollo de una técnica encaminada a predecir y por tanto evitar la aparición de BRC, supondría múltiples beneficios tanto para los pacientes sometidos a HD, como económicos.

2.2. HIPÓTESIS

Los CVCT son los catéteres normalmente usados en pacientes sometidos a HD como accesos de larga duración para la realización de dicha HD. La infección es la causa más frecuente de retirada de los mismos, así como una de las principales causas de morbilidad y mortalidad. El acceso vascular en HD es la primera fuente de bacteriemia, la infección más grave, y ésta se produce en los Catéteres de larga duración principalmente por la sucesiva colonización endoluminal del catéter.

Si pudiésemos conocer la dinámica de colonización endoluminal del CVCT y detectar el umbral de colonización endoluminal, capaz de desarrollar BRC, será muy útil para instaurar medidas preventivas y seleccionar un subgrupo de pacientes susceptible de tratamiento anticipado específico. Estas acciones reducirán significativamente el número de BRC, y permitirá salvar el acceso vascular (CVCT) en los pacientes en hemodiálisis.

2.3. OBJETIVOS

2.3.1. OBJETIVO PRINCIPAL

- Estudio de la dinámica de colonización endoluminal del catéter en una cohorte de pacientes en hemodiálisis con la finalidad de determinar un umbral de colonización a partir del cual los pacientes tengan alta probabilidad de desarrollar un episodio de BRC.

2.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la incidencia y las características clínicas de las BRC en los pacientes sometidos a HD portadores de CVCt.
- Determinar la etiología y sensibilidad a los antimicrobianos de los microorganismos causantes de BRC.
- Estudiar la dinámica de colonización del CVCt y determinar el papel de los microorganismos colonizadores en el desarrollo de BRC.
- Determinar un umbral de colonización endoluminal del CVC a partir del cual los pacientes tengan alta probabilidad de desarrollar un episodio de BRC.
- Determinar si las cepas que colonizan los CVC son las mismas que causan BRC en los pacientes de HD, y si existe diseminación clonal de alguna de ellas en la Unidad de HD.
- Determinar en *S. epidermidis* si existe diferencia entre las características entre las cepas hospitalarias y las comunitarias, tanto en el porcentaje de posesión de

JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

posibles marcadores de virulencia (*icaA*, *icaD*, IS256, producción fenotípica de *biocapa*), como en el patrón de sensibilidad antibiótica.

- Estudiar si las cepas de *S. epidermidis* causantes de BRC son más frecuentemente portadoras de los posibles factores de virulencia (*icaA*, *icaD*, IS256, producción fenotípica de *biocapa*), así como la posible asociación de alguno de estos factores con una mayor resistencia a los antimicrobianos.

MATERIAL Y MÉTODOS

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL ESTUDIO

3.1.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio prospectivo, longitudinal, de la cohorte de pacientes en HD portadores de catéteres venosos centrales tunelizados con manguito (*cuff*) en el que se monitorizó la colonización endoluminal del catéter en dichos pacientes.

El punto de referencia fue el desarrollo de BRC en los catéteres monitorizados. En ese momento se produjo la intervención por parte de los facultativos de la Unidad de Hemodiálisis, instaurando las medidas y/o estrategias necesarias para el tratamiento de los pacientes.

El desarrollo de BRC no implicaba la pérdida del paciente en el estudio, éste volvía a incluirse una vez concluía su tratamiento y/o inserción de nuevo CVCT.

3.1.2. DURACIÓN DEL ESTUDIO

El estudio se realizó durante un periodo de 19 meses, desde diciembre de 2006 a junio de 2008. Durante este periodo de tiempo, cada CVCT de cada paciente fue seguido un número diferente de días

3.1.3. LUGAR DE ESTUDIO

El presente estudio se llevó a cabo en dos Unidades de HD (una hospitalaria y otra extrahospitalaria) y en el Servicio de Microbiología del Hospital Universitario 12 de Octubre de Madrid (adscrito a la Universidad Complutense d Madrid). Se trata de un hospital terciario de aproximadamente 1.300 camas, y que consta de los servicios médicos, quirúrgicos, y de cuidados intensivos propios de un hospital de este nivel. Así mismo, en el hospital se desarrolla un programa muy amplio de diferentes tipos de trasplante.

Las dos unidades de HD participantes en el estudio fueron la Unidad de HD del Servicio de Nefrología del Hospital Universitario 12 de Octubre y el centro ambulatorio de HD San Luciano, adscrito a dicho hospital.

La unidad de HD del hospital dispone de 60 puestos para HD. Se dializan habitualmente una media de 55 pacientes. El centro ambulatorio de HD dispone de 125 puestos para HD, y en él se dializan una media de 115 pacientes. Los pacientes del centro ambulatorio de HD que presentan complicaciones relacionadas con la HD son remitidos habitualmente al Hospital 12 de Octubre.

3.2. POBLACIÓN DE ESTUDIO

El protocolo del estudio se presentó en el Comité Ético del hospital para su aprobación. Todos los datos fueron manejados de forma confidencial (Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal). Todos los pacientes, así como el personal de la unidad de HD y el personal del Servicio de Microbiología implicado en la recepción y procesamiento de las muestras, fueron informados del estudio. En el

MATERIAL Y MÉTODOS

Anexo III se muestra el consentimiento informado entregado a los pacientes, en el que se explican tanto la finalidad del estudio como la naturaleza de las intervenciones que recibían los pacientes que participaban en el estudio.

3.2.1. PACIENTES EN HEMODIÁLISIS PORTADORES DE CATÉTER VENOSO CENTRAL TUNELIZADO

Durante el periodo de duración del estudio, se reclutaron los pacientes adultos sometidos a HD mediante CVCt en las dos unidades de HD. Los pacientes se fueron incluyendo paulatinamente en el estudio. Se incluyeron, tanto los pacientes que ya estaban en HD mediante un CVCt al inicio del estudio (pacientes prevalentes), como los pacientes que iniciaban HD a través de un CVCt (pacientes incidentes) y que cumplían los criterios de inclusión. Así mismo, todo paciente en el que el catéter fuera retirado por cualquier causa, y se le insertara uno nuevo para HD, se le consideraba también candidato para inclusión en el estudio con ese nuevo catéter.

Los pacientes acudían 3 veces por semana a las sesiones de HD. Éstas tenían una duración aproximada de 4 horas. El estudio realizado no modificó la vida cotidiana o las actuaciones clínicas habituales que estaban establecidas o programadas.

Se realizó una revisión protocolizada de las historias clínicas de los pacientes en HD para la recogida de la información. Los datos recogidos de las historias clínicas se recolectaron en una hoja de registro inicial que se elaboraba para cada paciente y catéter, antes de su inclusión en el estudio para valoración, y, en una base de datos de Microsoft Office Access para Windows, una vez ya incluido en dicho estudio.

De forma general, en la hoja de registro (Anexo IV), se procedió a la recogida de los datos concernientes a la información demográfica, enfermedades de base, etiología

MATERIAL Y MÉTODOS

de la insuficiencia renal, tiempo en hemodiálisis, trasplantes previos, inmunosupresión previa, infecciones (como por ejemplo VHB, VHC, etc.), pacientes con antecedente de patología tumoral, catéteres anteriores, y datos relacionados con el catéter actual (tipo, tiempo de catéter, líquido de sellado del catéter, funcionamiento, manipulaciones que hubiera sufrido el CVCT a causa de mal función u otra causa, infecciones asociadas al catéter, y antibióticos recibidos). También se recogieron en el protocolo todos los datos relacionados con los estudios microbiológicos para la detección de colonización endoluminal del catéter (Anexo V).

Todos los datos generados en cada paciente y CVCT durante el periodo de monitorización, quedaron recogidos en la base de datos del programa Access, estratificada la información en tres escalones básicos. El primero era el perteneciente a los pacientes, el segundo, al CVCT monitorizado en cada paciente (un paciente podía tener uno o varios CVCT incluidos en el estudio), y, el tercero referente a la información recogida e intervenciones sufridas en cada CVCT incluido en el estudio. En el primer escalón se recogieron los siguientes datos: identificación del paciente, centro de HD, edad, sexo, la fecha desde la que llevaba recibiendo HD, la fecha de inicio en el estudio, la fecha de pérdida del paciente, su causa, los días de monitorización, la causa de la IRCT, enfermedades de base, si había portado previamente CVCT, el número de ellos y si alguno de éstos había sido retirado por infección y el número de CVCT. También se recogió el dato de la mortalidad y su causa. En el segundo escalón, se recogió el catéter o catéteres que el paciente portó durante el estudio. En todos ellos se recogió la siguiente información: fecha de inserción del catéter, tipo de catéter, localización, manipulaciones, complicaciones mecánicas y/o problemas de flujo o mal función en el CVCT o de cualquier naturaleza, sufridas antes del inicio del estudio. En el tercer escalón se recogieron todas las intervenciones que se realizaron durante la

MATERIAL Y MÉTODOS

monitorización del CVCT. Se apuntó la fecha de cada intervención, los días de estudio y días de inserción que llevaba ese CVCT a fecha de cada intervención, los resultados de los cultivos de las ramas arteriales y venosas de las diferentes muestras tomadas, acompañadas del número de colonias por ml en los líquidos de sellado y el tiempo de positividad en las botellas expresado en horas, así como el tipo de microorganismo aislado. Si se tomaron HC se registró su fecha y microorganismo identificado. Si se desarrolló BRC, si ésta era sintomática o no, el tratamiento antibiótico sistémico y de sellado del CVCT recibido y el éxito o no del tratamiento instaurado. Se registró también si el paciente tuvo que ser ingresado a causa de la BRC y/o si el catéter tuvo que ser retirado, así como todas las variaciones y/o complicaciones en dicho CVCT de estudio. También se anotaron la toma de muestras realizadas independientemente al estudio (como toma de muestra para cultivo de zona de inserción externa de catéter, o muestras para *screening* de portador nasal de *S. aureus*), así como todos los datos clínicos que pudieran ser potencialmente importantes para el estudio.

Además se elaboró un cepario con el programa Microsoft Excel para Windows donde quedó registrado en todos los aislados el número de muestra del aislado cultivado, el paciente al que pertenecía, la fecha, el resultado de horas de crecimiento (en las botellas) o número de colonias (en el líquido de sellado), la sensibilidad antibiótica. El patrón obtenido mediante la electroforesis en campo pulsante (ECP), la presencia de los genes *icaA*, *icaD*, IS256, y la capacidad fenotípica de producción de *biocapa* mediante el medio Rojo Congo en las cepas de *S. epidermidis* causantes de BRC y CEC, así como las aisladas en el grupo de voluntarios sanos, también quedaron registrados en la base de datos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Por lo tanto en la base de datos quedaron recogidos todos los datos concernientes a los pacientes, CVCt e intervenciones realizadas durante el estudio, el tipo de muestra y sus resultados obtenidos.

Los criterios de inclusión en el estudio fueron los siguientes:

- Adultos mayores de 18 años sometidos a HD portadores de CVCt.
- Periodo de seguimiento del CVCt de al menos 30 días.
- Historia clínica disponible.
- Aceptación de participación en el estudio por parte de los pacientes, firma del consentimiento informado.

Se consideraron los siguientes criterios de exclusión:

- Embarazadas.
- Pacientes que hubieran sufrido antes del comienzo del estudio, infecciones relacionadas con el catéter sujeto de dicho estudio, ya fuera infección local o infección diseminada.
- Pacientes cuyo CVCt sujeto del estudio hubiera sufrido sellado antibiótico y/o tratamiento sistémico.
- Datos incompletos en la historia clínica concernientes al CVCt insertado.

Aquellos pacientes que murieron durante el estudio, que se trasladaron a otra unidad de HD o que se les retiró el catéter por cualquier causa (como por ejemplo trasplante, instauración de FAV o cambio de modalidad de diálisis), se dio por terminado su periodo de estudio y los datos recogidos hasta esa fecha, si cumplían con los criterios establecidos, fueron usados para la evaluación y análisis de la eficacia de las muestras obtenidas. En el caso de que el paciente sufriera una infección, tras el

MATERIAL Y MÉTODOS

tratamiento instaurado, éste paciente, seguía monitorizándose, y registrándose los datos obtenidos para posterior análisis, aunque ya no se pudieron calcular todas las variables en este segundo periodo. Si el CVCt era retirado y reemplazado por otro, el paciente con ese nuevo catéter, era incluido de nuevo en el estudio, pudiendo calcular en este caso todas las variables, puesto que el CVCt estaba recién insertado y no había sufrido ninguna manipulación ni tratamiento antibiótico que pudiera alterar la dinámica natural de la CEC.

3.2.2. POBLACIÓN ADULTA SANA EXTRAHOSPITALARIA

Se seleccionó un grupo de población sana sin relación con el hospital para la detección y cultivo de *S. epidermidis* de las fosas nasales. La finalidad fue la de comparar las características microbiológicas y moleculares de estas cepas con las de *S. epidermidis* aisladas de los pacientes en HD, tanto en los pacientes que desarrollaron BRC como en los que sólo se detectó colonización.

Los criterios que debía cumplir este grupo de población fueron los siguientes:

- No haber tenido contacto previo con el hospital en al menos 2 años (ingreso, tratamiento en unidades de día, etc.)
- No haber tomado antibióticos en un periodo de al menos 6 meses anterior a la toma de muestra.
- Los voluntarios no debían tener contacto estrecho entre ellos.

3.3. CATÉTERES VENOSOS CENTRALES UTILIZADOS EN HEMODIÁLISIS

3.3.1. CARACTERÍSTICAS DE LOS CATÉTERES VENOSOS CENTRALES

Todos los catéteres estudiados fueron CVCT de doble luz, de la marca Permcath® (Quinton) Estos CVCT permiten un flujo de sangre de 350-400 ml/min. El material con el que están fabricados es silicona. En el segmento intravascular, tienen una separación en el término de la luz arterial a la punta del término de la luz de la rama venosa de 2,5 cm. Existen diferentes longitudes de catéter, para acomodarse a la anatomía del paciente (Figura 3)

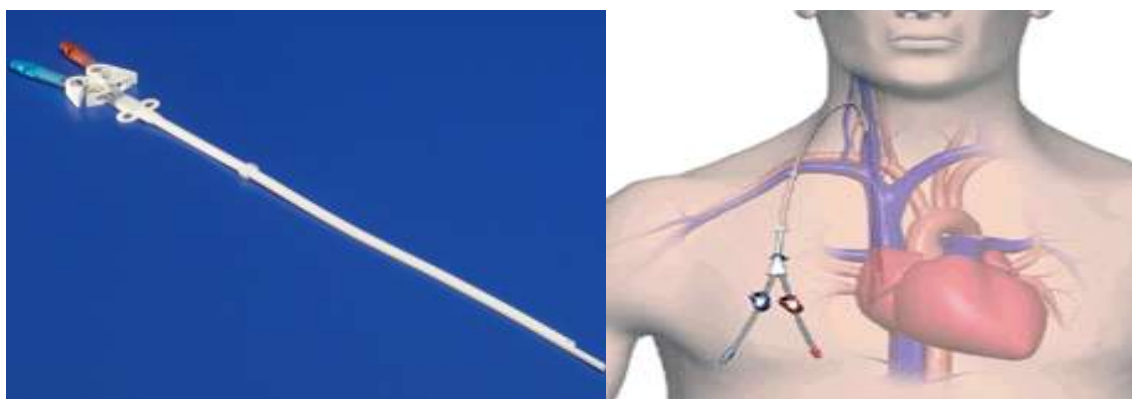


Figura 3. CVCT empleado en HD y esquema de su inserción. Izquierda: CVCT Permcath (Quinton). Imagen en <http://www.kendallhq.com>. Derecha: esquema de la inserción del CVCT sobre vena Subclavia.

MATERIAL Y MÉTODOS

La inserción, manipulación, cuidado y mantenimiento de los CVCT, se realizó siempre siguiendo las recomendaciones de las guías y siguiendo los protocolos establecidos por el hospital [16, 19, 32, 34, 44, 156, 178, 366, 381, 438-441]. La manipulación de las conexiones de los CVCT se realizaba siempre por personal especializado de la Unidad de HD, siguiendo las directrices marcadas y garantizando las medidas de asepsia. En la conexión y desconexión del CVCT siempre intervenían como mínimo dos personas de la unidad. El facultativo realizaba además de los protocolos establecidos, una exhaustiva revisión del orificio de salida del CVCT, en busca de posibles signos de inflamación y/o infección en cada sesión a la que el paciente acudía.

En la manipulación, conexión y desconexión del CVCT en cada sesión en la unidad de HD, se siguió el siguiente procedimiento:

- Se realizaba cuidadoso lavado de manos por parte del personal de la unidad.
- Tanto paciente como personal debían llevar mascarilla.
- La zona de trabajo debía ser estéril. Se usó paño fenestrado, gasas, guantes y suero fisiológico estériles.
- Tras retirar el apósito, se inspeccionaba el túnel subcutáneo y el orificio de salida del catéter y la piel. Toma de muestra para cultivo si enrojecimiento o exudado.
- Lavado de la zona con suero fisiológico hipertónico al 20%.
- Tras la retirada de los tapones (Luer-Lock B/Braum[®]), se aspiraban unos 5 ml del contenido del catéter y posterior purgado con suero salino (10 ml), utilizando jeringas distintas para cada rama del catéter. De esta manera se comprobaba el correcto funcionamiento, tanto de entrada

MATERIAL Y MÉTODOS

como de salida, de cada una de las ramas y se podían detectar problemas de flujo o de resistencia a la entrada.

- Conexión del CVCt al equipo de HD.
- Una vez terminado el procedimiento de la HD, se lavaba con suero fisiológico las conexiones del catéter, se introducían 2 ml de heparina sódica al 5%, en cada rama del catéter. Se cerraban las conexiones utilizando tapones nuevos estériles y se recubría la zona con apósitos transparentes y transpirables.

3.4. MUESTRAS Y ESTUDIO MICROBIOLÓGICO

Quedaron establecidos el tipo, periodicidad y criterios para la extracción de las muestras de vigilancia de la CEC. En el caso de sospecha clínica o microbiológica de BRC, como se detalla en los puntos siguientes, se procedió a la toma de HC simultáneos. Quedó establecido así mismo que en caso de ingreso, el tipo de muestras, el procedimiento, la toma de decisiones y estrategias terapéuticas se ajustarían a la situación clínica del paciente y al criterio del facultativo.

3.4.1. MUESTRAS DE MONITORIZACIÓN DE LA COLONIZACIÓN ENDOLUMINAL DEL CATÉTER

Una vez que el paciente se incluía en el estudio, y con una periodicidad quincenal, se recogían muestras clínicas para determinar la CEC. Durante la extracción de las muestras, la manipulación del CVCt se realizaba bajo las medidas establecidas,

extremando las medidas de asepsia y siguiendo el protocolo establecido en la Unidad de HD.

3.4.1.1. LÍQUIDO DE SELLADO DEL CATÉTER

Toma de las muestras:

Se obtuvieron muestras del líquido de sellado (heparina) para cultivo semicuantitativo. En los casos que no era posible obtener la solución de sellado libre de sangre, sin desencajar la jeringa se continuaba la extracción como si fuera una muestra de mezcla de líquido de sellado y sangre (ver punto posterior). Para la obtención de esta muestra se insertaba en el catéter una jeringa y se aspiraba una cantidad mínima, menos de 1 ml, con cuidado de no recoger sangre en esta muestra. Se identificaba la rama de la que provenía cada muestra, y se enviaba al laboratorio.

Procesamiento e interpretación de los resultados: se sembraron 50 µl de la solución de sellado (heparina) en placas de agar sangre Mueller Hinton con 5% de sangre de cordero (Francisco Soria Melguizo, España), realizando la extensión sobre toda la placa para recuento. Se incubó durante 48 horas a 35°C en condiciones de aerobiosis. Se procedió al recuento de las colonias obtenidas en el cultivo a las 24 y 48 horas, e identificación de las diferentes morfologías, independientemente de su recuento, según los procedimientos habituales en el laboratorio. Los resultados se expresaron en UFC/ ml. Estas cepas se conservaron congeladas (-70°C).

La extracción de esta muestra supone mayor manipulación del CVCT, aunque muy escasa. Una vez retirada la muestra, se desconectaba la jeringa encajada y se procedía a encajar una nueva jeringa para extracción de la muestra que contenía líquido de sellado y sangre (descrita en el apartado siguiente).

3.4.1.2. MEZCLA DE LÍQUIDO DE SELLADO Y SANGRE EXTRAÍDA A TRAVÉS DEL CATÉTER

Toma de las muestras:

Antes de comenzar la sesión de diálisis se encajaba la jeringa en las conexiones de las dos luces de las ramas arterial y venosa del CVCt, extrayéndose una cantidad aproximada de 5 ml de cada rama. Estos 5 ml incluían la solución de líquido sellado, heparina, que se introdujo al término de la sesión anterior (aproximadamente 2 ml), y sangre (aproximadamente 3 ml). Estas dos muestras extraídas de la rama arterial y venosa, se inoculaban cada una en un frasco de HC, previamente identificados, para cultivo aerobio. Las muestras eran trasladadas al laboratorio de Microbiología en un plazo no superior a las 4 horas, y mientras tanto eran mantenidas a temperatura ambiente.

Procesamiento e interpretación de los resultados:

Una vez las muestras llegaban al laboratorio, los frascos de las muestras procedentes de las ramas arterial y venosa eran introducidos en el procesador de HC BacT/ALERT® 3D (bioMérieux, España) que detecta automáticamente el crecimiento microbiano. Este sistema registra tanto el momento (día y hora) de la introducción de los frascos, como el momento de la detección de crecimiento. De esta forma se obtenía el tiempo de crecimiento, que es inversamente proporcional al número de UFC contenidas inicialmente en la botella [442]. En estos casos de positividad de los cultivos, se procedía a la identificación y antibiograma de las diferentes morfologías obtenidas en el cultivo (como se indica posteriormente), y se congelaban dichas cepas a -70°C. Las botellas eran mantenidas un máximo de 5 días en el sistema automático de

MATERIAL Y MÉTODOS

detección. Si transcurridos estos 5 días no se había detectado crecimiento, el resultado era considerado negativo, por lo tanto, la muestra era considerada estéril.

3.4.2. MUESTRAS DE DIAGNÓSTICO DE LA BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER

3.4.2.1. MUESTRAS DE DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LA BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER

En los pacientes en los que se detectó colonización endoluminal (ver abajo criterios), y sin evidencia clínica de signos y síntomas de infección relacionada con el catéter, se procedió a la extracción HC simultáneos, con el mismo volumen de sangre para cada botella (10 ml), extraídos a través de ambas ramas del catéter y a través de vena periférica, con el fin de detectar si existía bacteriemia y si la misma pudiera estar relacionada con el catéter [296, 297, 335-341]. Se introdujeron las botellas en el sistema automático de detección y basándonos en velocidad de crecimiento de los HC, estableciendo un punto de corte de 120 minutos de diferencia en el tiempo de positividad (de la sangre extraída a través de vía central con respecto a vía periférica) [297, 335, 336], se diagnosticó el origen de la bacteriemia.

Los criterios microbiológicos para la toma de HC fueron los siguientes:

- Crecimiento en una muestra de colonización endoluminal del CVCt de cualquiera de los siguientes microorganismos: *S. aureus*, BGN o levaduras.

MATERIAL Y MÉTODOS

- Crecimiento de otros microorganismos, principalmente ECN, en dos muestras consecutivas de CEC con disminución del tiempo de Crecimiento (<2 horas) o aumento del número de colonias (<1 logaritmo).
- Crecimiento de tres muestras consecutivas, independientemente del tiempo de crecimiento o del número de UFC.

Así mismo se procedió a la toma de muestras vigilancia de la CEC, a la misma vez que se tomaban las muestras de diagnóstico para BRC.

En los pacientes en los que se detectó BRC, sin evidencia clínica de infección, fueron monitorizados y manejados clínicamente en cada sesión de HD según los criterios establecidos en la unidad de HD por los facultativos. La decisión de tratamiento antibiótico (sistémico y/o sellado) fue individualizada para cada paciente, teniendo en cuenta todos los datos microbiológicos y clínicos del paciente.

Nota: los HC se tomaron en la primera sesión de HD al que el paciente acude una vez diagnosticada la CEC. En el caso de acudir el paciente por sintomatología clínica se siguieron las estrategias establecidas en el servicio.

3.4.2.2. MUESTRAS EN CASO DE SOSPECHA CLÍNICA DE BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER

Ante la sospecha clínica de una BRC se procedió a la extracción HC simultáneos, con el mismo volumen de sangre para cada botella (10 ml), extraídos a través de ambas ramas del catéter y otro de vena periférica con el fin de detectar si existe crecimiento y el origen de la bacteriemia. Los criterios de positividad y diagnóstico de BRC fueron los mismos que los descritos en el apartado anterior.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los pacientes con sospecha clínica de BRC y aquellos con BRC confirmada fueron manejados, desde el punto de vista del diagnóstico y tratamiento de acuerdo a las prácticas clínicas habituales y a las recomendaciones de las guías y sociedades científicas [92, 178], y criterio facultativo. La instauración del tratamiento antibiótico dependió de la situación clínica del paciente y del microorganismo aislado en cada caso particular

3.4.2.3. MUESTRAS EN CASO DE RETIRADA DEL CATÉTER POR BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER

Las muestras para estudio en este caso, además de las referidas en el apartado anterior, serán el segmento intravascular (punta) y el trayecto subcutáneo, que serán procesados de igual manera mediante las técnicas descritas en este mismo apartado, para determinar el nivel de colonización del catéter en el momento de su retirada y los microorganismos implicados.

Cultivo semicuantitativo del catéter: técnica de Maki:

Se realizó el cultivo siguiendo la técnica de Maki y cols [301]. La técnica de siembra se realiza con la ayuda de unas pinzas estériles, rodando el segmento intravascular del catéter, tres o cuatro veces sobre una placa de agar sangre. Se incubó posteriormente la placa a 35°C en condiciones de aerobiosis, durante 48 horas. En aquellos cultivos en los que se obtuvo un crecimiento igual o superior a 15 UFC por placa, se efectuó identificación y antibiograma. Las cepas fueron conservadas congeladas.

Cultivo cuantitativo del catéter (sonicación)

Esta técnica permite recuperar los microorganismos de la superficie (externa e interna) del catéter mediante sonicación [205, 311]. Se realiza tras el sembrado del catéter mediante la técnica de Maki, descrita en el punto anterior. Se realizó sonicación durante un minuto de la punta del catéter sumergida en 10 ml de caldo de tripticasa-soja, seguido del vorteador de la muestra durante 15 segundos. Posteriormente se sembraron 0,1 ml del caldo original así como 0,1 ml de sus diluciones 1:10 y 1:100 en placas de agar sangre, a 35°C en condiciones de aerobiosis, durante 48 horas para cuantificar la colonización. En aquellos cultivos en los que se obtuvo un crecimiento de colonias igual o superior a 100 UFC/ml se efectuó identificación y antibiograma.

3.4.3. ESTUDIO DE LOS *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS* EN LOS VESTÍBULOS NAALES EN LA POBLACIÓN ADULTA EXTRAHOSPITALARIA

En este grupo de población se procedió a tomar una muestra de exudado. Estas muestras fueron utilizadas para identificar y caracterizar los *S. epidermidis* que portaba este tipo de población.

Toma de las muestras: mediante torunda con medio de transporte se tomó la muestra de exudado de ambos vestíbulos nasales, mediante una torunda de algodón, con la que se rotaba varias veces la superficie interna de ambos vestíbulos nasales.

Procesamiento e interpretación de los resultados: la muestra se conservó en nevera no más de 24 horas hasta su siembra en placas de agar sangre y agar manitol salado. Se procedió al aislamiento e identificación de los *S. epidermidis* encontrados

MATERIAL Y MÉTODOS

mediante los métodos descritos en el apartado 3.5 (catalasa, coagulasa, identificación y sensibilidad antibiótica) y se congelaron para su posterior estudio (-70°C).

3.5. IDENTIFICACIÓN Y SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE LOS AISLAMIENTOS

Todas las cepas aisladas durante el estudio fueron identificadas con un número e introducidas en una base de datos.

En todos los aislamientos obtenidos se confirmó la identificación a nivel de especie. Para la obtención de dicha identificación y patrón de sensibilidad antibiótica se usó el Sistema de Identificación de Microorganismos Wider® (Francisco Soria Melguizo, Madrid, España), mediante las pruebas bioquímicas convencionales.

Para los aislados gram positivos, se usó el Wider MIC/ID Gram Pos (C094-31/REV1), y para los BGN los paneles MIC/ID Gram Neg (C095-31/REV1), que identificaban correctamente los microorganismos aislados durante el estudio.

Así mismo en todos los cocos gram positivos catalasa positiva, se estudió complementariamente la prueba de la coagulasa. Para realizar esta técnica se utilizó un reactivo constituido por plasma de conejo citratado (Biomérieux). Se mezclan 0,5 ml de plasma con 0,5 ml de caldo de cultivo de estafilococo, se incuba a 37°C durante 4 horas y se identifica el resultado visualmente. Si el resultado es negativo, se deja en la estufa hasta completar las 24 horas. La prueba es positiva si se observa formación de coágulo. La realización de la sensibilidad antibiótica se realizó también por el sistema Wider (MIC/ID Gram Pos), que emplea la técnica de microdilución. Los antimicrobianos incluidos en este panel fueron: penicilina, ampicilina, amoxicilina/ácido clavulánico, oxacilina, cefazolina, cefotaxima, cefuroxima, eritromicina, clindamicina, rifampicina,

MATERIAL Y MÉTODOS

cotrimoxazol (trimetoprim/sulfametoxazol), ciprofloxacino, gentamicina, amikacina, fosfomicina, vancomicina y teicoplanina. El estudio de sensibilidad antibiótica se completó en todas las cepas de *S. epidermidis* causantes de BRC, mediante el método de difusión disco-placa en agar Mueller-Hinton siguiendo las normas del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), anteriormente llamado National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) [21]. Los antibióticos utilizados fueron: penicilina (10UI), oxacilina (1µg), eritromicina (15 µg), clindamicina (2 µg), cotrimoxazol (trimetoprim 1,25 µg / sulfametoxazol 23,75 µg), gentamicina (10 µg), rifampicina (5 µg), ciprofloxacino (5 µg), vancomicina (30 µg), mupirocina (5 µg), ácido fusídico (10 µg) y linezolid (30 µg).

La resistencia a macrólidos y lincosaminas se comprobó utilizando discos de eritromicina (15 µg) y de clindamicina (2 µg) colocados en una placa de Mueller-Hinton previamente inoculada, con una distancia de 15-25 mm entre los bordes de ambos discos. Después de 24 horas de incubación a 35°C las zonas de inhibición fueron interpretadas según su tamaño y forma, con el fin de detectar cualquier aplanamiento de la forma en la zona de la clindamicina (D-Zona), indicando resistencia inducible, hecho que nosotros interpretamos como clindamicina resistente. Si por el contrario, no se producía un efecto D-zona, consideramos que la cepa era sensible o resistente a clindamicina en función del tamaño de los halos de inhibición.

El panel de gram negativos usado fue el Wider MIC/ID Gram Neg que incluía los siguientes antimicrobianos: amoxicilina, amoxicilina/ácido clavulánico, piperacilina/tazobactam, ticarcilina, cefalotina, cefuroxima, cefoxitina, ceftazidima, ceftazidima/ ácido clavulánico, cefepime, imipenem, meropenem, gentamicina, amikacina, tobramicina, ácido nalidíxico, ciprofloxacino, cotrimoxazol y fosfomicina.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los patrones de resistencia fenotípica también fueron introducidos en la base de datos para su posterior análisis.

3.6. TIPIFICACIÓN MOLECULAR DE LOS MICROORGANISMOS

Los sistemas de tipificación molecular tienen como objetivo comparar la composición de los ácidos nucleicos de dos o más microorganismos. De este modo se puede reconocer la relación entre aislamientos vinculados epidemiológicamente, y por tanto derivados recientes de un microorganismo precursor común. A la vez diferencian aislamientos no relacionados, con independencia de su pertenencia a la misma especie microbiológica o taxón [443-445]. De esta manera podemos definir la relación existente, clonal o no, entre los aislamientos estudiados. El término clon o grupo clonal en epidemiología hace referencia al grupo de aislamientos relacionados por el hecho de descender de un ancestro común, esto es, por formar parte de una cadena de replicación y transmisión. Las cepas relacionadas provienen, pues, de la extensión clonal de un precursor único y poseen un nivel de similitud entre sus genotipos y fenotipos significativamente superior al que se encontraría entre los aislamientos no relacionados de la misma especie seleccionados arbitrariamente [445, 446].

3.6.1. ELECTROFORESIS EN CAMPO PULSANTE

La técnica de electroforesis en campo pulsante, es una técnica de macrorrestricción de ADN cromosómico, que presenta gran versatilidad y permite conocer la clonalidad de diferentes aislados en situaciones epidémicas con tiempo y espacio definido, además puede ayudar a descifrar la patogenicidad y la historia natural de ciertas infecciones [447].

Para una especie bacteriana concreta, podemos encontrar enzimas de restricción de baja frecuencia de corte, es decir, enzimas cuyo lugar de restricción, por su longitud y secuencia, se encuentran raramente a lo largo del ADN cromosómico de la especie bacteriana en cuestión [448]. El uso de este tipo de enzimas permite la macrorrestricción del ADN de la bacteria, es decir, la división del ADN en pocos fragmentos (entre 10 y 30). Muchos de estos fragmentos son de gran tamaño, más de 40 kilobases (kb). Éstas no pueden separarse por técnicas de electroforesis convencional, en las que se aplica un campo eléctrico constante o estático, sino que requieren técnicas en las que la orientación del campo eléctrico es variable periódicamente, es decir, técnica de electroforesis en campo pulsante.

La combinación de estas dos técnicas, macrorrestricción del ADN y separación de los fragmentos por ECP, se ha aplicado con mucha frecuencia en estudios epidemiológicos en bacteriología. Se obtienen así, patrones de restricción sencillos que representan el ADN cromosómico bacteriano distribuido en unas pocas bandas con movilidades electroforéticas distintas.

El proceso se divide en distintas fases. Primero, el procedimiento de extracción de ADN cromosómico bacteriano, que obliga a inmovilizar las células bacterianas en bloques de agarosa, en los que se llevará a cabo la lisis, de manera que el ADN

MATERIAL Y MÉTODOS

cromosómico también quede embebido en agarosa. El objetivo es que el ADN permanezca íntegro y no se fracture accidentalmente lo cual desvirtuaría los patrones de restricción y afectaría a la reproducibilidad de la técnica. A continuación, la restricción del ADN, utilizando enzimas de restricción de baja frecuencia de corte, y por último la técnica de electroforesis, utilizada para la separación de los fragmentos obtenidos, una ECP, con las características diferenciales propias de ésta.

Schwartz y Cantor, en 1984 describieron la técnica de ECP y su utilidad en la separación de moléculas grandes de ADN, del orden de varios cientos de kb, a través de los poros de agarosa [449]. De todos los sistemas desarrollados, el que tiene su uso más extendido es el CHEF (*clamped homogeneous electric field electrophoresis*). Este sistema dispone de 24 electrodos dispuestos periféricamente y fijos a un contorno hexagonal.

La caracterización genotípica de las cepas *S. epidermidis*, se realizó mediante la técnica de ECP tras la digestión de los extractos de ADN con el enzima *SmaI* [450]. El propósito fue determinar el papel de los microorganismos colonizadores en el desarrollo de BRC así como detectar si existía algún clon más prevalente que pudiera causar BRC y diseminarse entre los pacientes de la unidad de HD.

Para la realización de la técnica de ECP como se ha mencionado anteriormente, son necesarias tres fases, extracción del ADN, restricción del ADN y separación de los fragmentos obtenidos mediante sistema de ECP, empleando un gradiente de voltaje alterno. Dichas fases, se describen a continuación con detalle.

Extracción del ADN:

Para la obtención del ADN cromosómico se partió de cultivos de *S. epidermidis* de crecimiento reciente en un medio de agar sangre. Las bacterias contenidas en un asa

MATERIAL Y MÉTODOS

de cultivo, procedentes de una única colonia, se cultivaron en tubos con 10 ml de medio Luria-Bertani (10 g de triptona, 5 g de extracto de levadura, 10 g de NaCl, agua destilada hasta 1.000 ml, pH=7). Se incubaron con agitación (150 r.p.m.), a 37°C, durante 20 horas. Tras ese período de tiempo, los tubos fueron agitados en un agitador vortical a 2.000 r.p.m. durante 30-60 segundos, con la finalidad de romper los posibles agregados bacterianos que se hubieran formado y homogeneizar la suspensión bacteriana. En un tubo *ependorf*, se añadieron 0,5 ml de esta suspensión, se centrifugaron durante 2 minutos a 8.000 r.p.m. y se lavaron las células con 0,5 ml de tampón PIV (0,01 mM Tris-HCl, pH=8, 1 M NaCl). Se centrifugó de nuevo y se desechó el sobrenadante. El *pellet* se resuspendió en 200 µl de tampón PIV. De esta suspensión se añadieron 5 µl en 1 ml de PIV y se midió, en el espectrofotómetro, modelo Gene Quant II RNA/DNA Calculator (Pharmacia Biotech), la densidad óptica (DO), a una longitud de onda de 620 nm, obteniendo así el volumen de PIV necesario (*) en el que se tenía que diluir cada muestra para que todas tuvieran la misma concentración (el resultado queda expresado en ml).

$$(*) \text{ Volumen de PIV} = (DO_{620} \times 40 \times 210) - 210.$$

Una vez realizado el cálculo y añadido el volumen necesario, se mezclaron, a partes iguales (200µl), el inóculo y una solución de agarosa de bajo punto de fusión (Megabase Agarose, BioRad, Hercules, California) al 2% y se dispensaron en el interior de unos moldes específicos para ECP y se dejaron solidificar durante una hora en la nevera, a temperatura de 4°C, obteniendo así un inóculo bacteriano estándar incluido en los moldes de agarosa correspondientes. Los moldes obtenidos se denominan discos o “*plugs*”.

Una vez solidificados, fueron desmoldados los discos de agarosa y se transfirieron a unos tubos con una solución de tampón de lisis que incluía: lisoestafina a

MATERIAL Y MÉTODOS

una concentración de 50 µg/µl (50 µl), lisozima a una concentración de 100 µg/ml (10 µl), RNAsa a una concentración de 10 mg/µl (5 µl) y 935 µl de tampón EC (6 mM Tris-HCl, pH=8; 1 M NaCl; 0,1 M EDTA pH=8; 0,2% Desoxicolato sódico; 0,5% Sarcosyl). Se incubaron a 37°C durante 5 horas, pasadas las cuales, la solución de lisis fue sustituida por una solución compuesta de ES (0,4 M EDTA, pH=9, 1% sarcosil) y proteinasa-K, en concentración de 10 mg/ml, en un volumen total de 1 ml. En esta solución, los discos de agarosa se incubaron 18 horas a 50°C. Terminado el periodo de incubación se aspiró esta solución y posteriormente los discos se lavaron con 10 ml de TE buffer 1x (10mM Tris-HCl pH=8, 1 mM EDTA, pH=8), en agitación (4 lavados de 30 minutos cada uno), a temperatura ambiente, para eliminar los restos de proteinasa-K e impurezas, y, se conservaron a 4°C para su posterior uso.

Restricción del ADN

La digestión enzimática del ADN se produce en el mismo disco de agarosa ya que el enzima de restricción difunde a través de él, y se evita así la ruptura del ADN cromosómico [451] . Se utilizaron endonucleasas de baja frecuencia de corte. Se usó el enzima de macrorrestricción *SmaI*. Es una enzima de baja frecuencia de corte, la cual reconoce secuencias en el genoma de *Staphylococcus* spp. poco representadas, realizándose una digestión del ADN cromosómico y generando fragmentos grandes derivados del genoma del microorganismo.

La digestión del ADN cromosómico se llevó a cabo primero realizando una preincubación de 15 minutos sin la enzima y en un volumen de 200 µL de una solución compuesta por 20 µL de buffer *SmaI* y 180 µL de agua destilada. La solución de restricción estaba compuesta por 3 µl del enzima *SmaI* (60 unidades por reacción), 30 µL del buffer *SmaI* (Biolabs, New England, EEUU) y 267 µl de agua destilada, por lo

MATERIAL Y MÉTODOS

tanto, un volumen total de 300 μ l. Los discos de agarosa se mantuvieron en restricción en el termobloque a 25° durante 18 horas.

Electroforesis de los fragmentos de restricción e interpretación de los resultados

Para la electroforesis se utilizaron geles de agarosa (Biorad, California, EEUU), al 1% en un buffer TBE 0,5x (Tris-HCl 50 mM, H₃BO₃ 50 mM, EDTA 0,2 mM, pH=8). Se realizó antes de la introducción de los discos una pre-electroforesis al gel preparado, manteniendo las mismas condiciones de electroforesis que se tuvieron más tarde. En cada gel se cargaron los discos de agarosa, y en los carriles de los extremos del gel se depositaron marcadores de peso molecular. Se cargaron un total de 15 pocillos en cada gel. Los discos de agarosa y los marcadores de peso molecular se introdujeron en los huecos hechos mediante un peine específico. Tras su introducción se fijaron mediante una solución fundida de agarosa al 1% (de esta forma los discos y marcadores quedan integrados en el gel de agarosa sin posibilidad de que pudieran moverse o salirse de su lugar establecido). Se usó como marcador molecular Lambda Ladder (Lambda Ladder, PFGE Marker, Biolabs, New England, EE UU), que fue incluido en los geles para permitir la comparación de la digitalización normalizada de los perfiles de ECP.

La electroforesis se llevó a cabo en el sistema CHEF-DRIII (Bio-Rad[®], Richmond, US), utilizando como tampón TBE al 0,5x. Las condiciones de electroforesis programadas para su puesta en marcha fueron las siguientes: distribución lineal de pulsos durante 23 horas a 14°C, con un gradiente de voltaje de 6 V cm⁻¹, con pulsos durante 11,5 horas en el primer bloque de 5 a 15 segundos, y en el segundo bloque 11,5 horas de 15 a 40 segundos. Una vez que los ciclos habían finalizado, terminada la electroforesis, se extrajeron los geles, y se tiñeron con una solución de 5 mg/ml de

MATERIAL Y MÉTODOS

Bromuro de Etidio (Sigma-Aldrich Química S.A., Madrid, España), con el buffer TBE 0,5x durante 20 minutos en agitación a temperatura ambiente (500 ml de TBE y 50 μ L de Bromuro de Etidio). Posteriormente se realizaron los lavados en agua destilada necesarios para su correcta observación mediante un transiluminador, bajo luz ultravioleta. A continuación se procedió a obtener una imagen de los patrones electroforéticos de los aislamientos clínicos analizados captándola mediante cámara digital.

3.6.1.1. CRITERIOS PARA LA INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El objetivo principal de esta técnica consiste en poner de manifiesto la posible relación genética de los aislamientos estudiados. Hay que tener en cuenta que con frecuencia cambios genéticos, que ocurren muchas veces de forma aleatoria, alteran el perfil de los patrones de la cepa epidémica en el curso de un brote. Es preciso contabilizar el número de fragmentos distintos de cada cepa con todas las demás, fragmento a fragmento.

En función del número de diferencias entre dos patrones se clasifican los aislamientos en los siguientes grupos [452]:

Idénticos: cuando los dos aislamientos presentan el mismo número de bandas y éstas tienen aparentemente el mismo tamaño. En este caso ambos aislamientos representan la misma cepa.

Genéticamente relacionados: cuando el número de diferencias entre los dos aislamientos es inferior o igual a 3. Esto es debido a que un único cambio genético, en el más desfavorable de los casos (mutación espontánea que afecte a un lugar de

MATERIAL Y MÉTODOS

restricción, creando uno nuevo o haciendo desaparecer uno ya existente), se traduce en un máximo de tres diferencias entre los patrones de un aislamiento y su ancestro. En este caso, las dos cepas pueden considerarse genéticamente relacionadas (una subtipo de la otra o ambas derivadas de un ancestro común) y sus diferencias pueden ser la consecuencia de los cambios genéticos que se acumulan en las sucesivas generaciones bacterianas.

Posiblemente relacionados: cuando los cambios entre los dos patrones pueden ser atribuidos a dos hechos genéticos independientes, el número de cambios puede llegar a ser hasta de 6 (inserciones o deleciones de ADN, o ganancia o pérdida de lugares de restricción). Aunque estos aislamientos puedan también corresponder a una línea evolutiva común, su relación genética no es tan cercana y por lo tanto, es menos probable su relación epidemiológica. Este número de variaciones puede verse entre aislamientos separados por largos periodos de tiempo (superior a 6 meses), entre aislamientos que proceden de brotes que han afectado a un gran número de personas o entre aislamientos que proceden de situaciones endémicas prolongadas. En estos casos, antes de llegar a una conclusión sería interesante analizar las características fenotípicas de los aislamientos, su sensibilidad antibiótica y aplicar otros marcadores genotípicos si fuera necesario.

No relacionados: cuando los cambios entre los dos patrones son atribuibles a tres o más cambios genéticos independientes, lo cual se traduce en un número de diferencias entre los dos patrones superior a 6. En este caso interpretaremos que las dos cepas pertenecen a clones distintos, sin relación epidemiológica.

También analizamos los patrones de ECP, mediante sistemas informáticos que objetivan el número de diferencias entre dos aislamientos y les asignan una "distancia genética". En estos sistemas, se precisa captar la imagen del gel primero, normalizarlo e

MATERIAL Y MÉTODOS

identificar las bandas que quieren ser incluidas en el análisis. Son sistemas muy útiles para analizar colecciones que incluyen muchos microorganismos.

El análisis de los patrones moleculares se realizó con el programa informático Bionumerics (Applied Maths, Kortrijk, Bélgica). El algoritmo matemático utilizado fue el método de agrupación por pares no ponderados utilizando promedios (unweighted pair group method using arithmetic averages [UPGMA]).

La asignación de pulsotipos se realizó teniendo en cuenta el coeficiente de Dice, un porcentaje de tolerancia entre bandas del 1,8% y una optimización del 0,50% con el programa Bionumerics. Los patrones de ECP, pulsotipos, fueron designados con letras mayúsculas del alfabeto. Un coeficiente de similaridad superior al 80% fue utilizado para definir un patrón de ECP, siguiendo los criterios descritos por Tenover, mayor del 80% de similitud y menor de 3 bandas de diferencia [452].

3.6.1.2. INDICACIONES E INCONVENIENTES DE LA TÉCNICA

Las técnicas de macrorrestricción y ECP se utilizan para la tipificación molecular de un gran número de especies bacterianas. Son técnicas que aportan información general sobre el genotipo bacteriano y sus cambios más recientes. En general, sus resultados han demostrado ser suficientemente discriminativos, con excelente reproducibilidad y fáciles de interpretar cuando se estudian colecciones de microorganismos aislados en un período de tiempo corto. Al aplicar estas técnicas en el estudio de brotes de infección nosocomial endémicos, hay que tener en cuenta que la rentabilidad de la técnica variará en función del momento del brote [447, 453].

MATERIAL Y MÉTODOS

En algunas especies bacterianas, esta técnica carece del suficiente poder de discriminación. También existen algunas especies bacterianas en las que la degradación del ADN cromosómico hace que muchas de sus cepas sean "no tipables" por ECP.

Un inconveniente importante es el derivado de la interpretación de los patrones de bandas obtenidos, que es subjetiva en algunos casos en ausencia de un sistema normalizado que permita cuantificar uniformemente la distancia genética.

Finalmente, las técnicas de macrorrestricción y ECP no detectan cambios puntuales en genes ni permiten la observación detallada de ciertos elementos genéticos (plásmidos, transposones, secuencias de inserción, etc.). Por lo tanto, para abordar algunos problemas epidemiológicos en los que intervengan estas secuencias, se requiere la combinación con otras técnicas.

3.6.2. AISLAMIENTOS SELECCIONADOS

La tipificación molecular se realizó sobre los aislamientos de *S. epidermidis* hallados en las muestras de vigilancia de la CEC en los catéteres que habían sufrido BRC, así como en las muestras de HC.

En las muestras de HC se disponía tanto de muestras de punción de vía periférica como las extraídas a través del CVct. En ocasiones se disponía de varias tomas de HC para monitorizar resultado del tratamiento antibiótico insaturado. En este caso se seleccionaron las muestras correspondientes a la primera toma de HC para diagnóstico de BRC (por lo tanto una muestra de vía periférica, otra muestra extraída a través de la rama arterial del CVct y la tercera procedente de la rama venosa del CVct)

3.7. DETECCIÓN DE LOS GENES *ICAA*, *ICAD*, SECUENCIA DE INSERCIÓN IS256 Y PRODUCCIÓN *BIOCAPA* EN LAS CEPAS DE *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*

En los aislamientos de *S. epidermidis* causantes de BRC, No-BRC y grupo de voluntarios sanos, se realizó la detección, mediante PCR, de la presencia de los genes *icaA*, *icaD*, secuencia de inserción IS256 y de la producción fenotípica de *biocapa*, mediante el medio de cultivo Rojo Congo.

Para el estudio de la detección de producción fenotípica de *biocapa* se usaron dos cepas de referencia de *S. epidermidis*, una de ellas productora de *biocapa*, ATCC 35984 (RP62A) y otra no productora de *biocapa*, ATCC 12228.

Como control positivo para la detección de los genes *icaA*, *icaD* y secuencia de inserción IS256 se usó la cepa de referencia de *S. epidermidis* ATCC 35984 y como control negativo agua estéril libre de ADN en la realización de la PCR.

Las cepas en las que se realizó la detección de los genes mencionados, fueron las mismas sobre las que se realizó la ECP

3.7.1. DETECCIÓN DE LOS GENES *ICAA*, *ICAD* Y SECUENCIA DE INSERCIÓN IS256

Extracción del ADN

Para la extracción del ADN cromosómico se partió de cepas de *S.epidermidis* de cultivo joven en placas de agar sangre. Cuatro o cinco colonias se suspendieron en una solución de lisis formada por lisozima a concentración 20 µg/ml. Esta suspensión se incubó a 37°C durante 30 minutos. Posteriormente siguiendo las instrucciones del fabricante, se introdujo en el extractor automático de ADN QIAcube (QIAGEN, Werfen Group IZASA, EE UU).

Amplificación de las secuencias de los genes *icaA*, *icaD* y secuencia de inserción IS256 mediante reacción en cadena de la polimerasa

Las secuencias de los genes *icaA* e *icaD* fueron tomadas de la base de datos de secuencias del *GenBank* del centro de información nacional de Biotecnología (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). El número de acceso para el operón *ica* fue U43366.

Los cebadores fueron sintetizados por Invitrogen (EE UU). Para la detección de *icaA*, 5'-TCTCTTGCAGGAGCAATCAA fue usado como cebador forward (que corresponde a los nucleótidos de 1.337 a 1.356), y 5'-TCAGGCACTAACATCCAGCA fue usado como cebador reverso (que corresponde a los nucleótidos de 1.505 a 1.524). Estos dos cebadores incluyen una región de 188 pares de bases.

Para la detección de *icaD*, 5'-ATGGTCAAGCCCAGACAGAG fue usado como primer forward (que corresponde a los nucleótidos de 1963 a 1982), y 5'-CGTGTTTTCAACATTTAATGCAA, fue usado como cebador reverso (que

MATERIAL Y MÉTODOS

corresponde a los nucleótidos de 2.138 a 2.160). Estos dos cebadores incluyen una región de 198 pares de bases (pb).

Para la secuencia de inserción IS256, fue usado como primer forward 5'-AGTCCTTTTACGGTACAATG-3' y reverso 5'-TGTGCGCATCAGAAATAACG-3', que originan un producto de 762 pb.

La amplificación del ADN y la detección del producto se llevó a cabo con un equipo termociclador de PCR, LightCycler® Carousel-Based System, (Roche Mannheim, Alemania) que realiza una reacción en cadena de la polimerasa con detección a tiempo real.

La reacción fue realizada en un volumen de 10 µl, conteniendo 0,5 µl de los cebadores mencionados anteriormente (0,5 µM cada uno), junto con 2 µl del ADN extraído, 4,3 µl de agua bidestilada estéril para uso de PCR, 1,2 µl de MgCl₂ (4mM), 1 µl de DNA Master SYBRgreen (10x), y 0,5 µl de la enzima UDG (1 U/µl) (Roche, Mannheim, Alemania).

El programa térmico usado tanto para el gen *icaA* como para *icaD*, incluye los parámetros que a continuación se mencionan. Incubación a 95°C durante 10 minutos para realizar desnaturalización de las cadenas de ADN, seguido de 45 ciclos de amplificación con las siguientes temperaturas y tiempos: 95°C durante 5 segundos (desnaturalización), 58°C durante 11 segundos (hibridación), 72°C durante 15 segundos (extensión). Por último, un ciclo de desnaturalización mediante la aplicación de un gradiente de temperaturas desde 50°C hasta 95°C para monitorizar la cinética de disociación de los fragmentos amplificados y determinar la temperatura de fusión (Figura 4). Para la secuencia de inserción IS256 las condiciones fueron iguales excepto la temperatura de hibridación que fue de 60°C. Mediante esta reacción se monitoriza en cada ciclo la aparición de ADN producto de la reacción mediante el uso del fluoróforo

MATERIAL Y MÉTODOS

SYBR Green, de manera que cada vez que se realiza una copia de ADN molde se libera una fluorescencia proporcional a la cantidad de ADN que se genera (Figura 5).

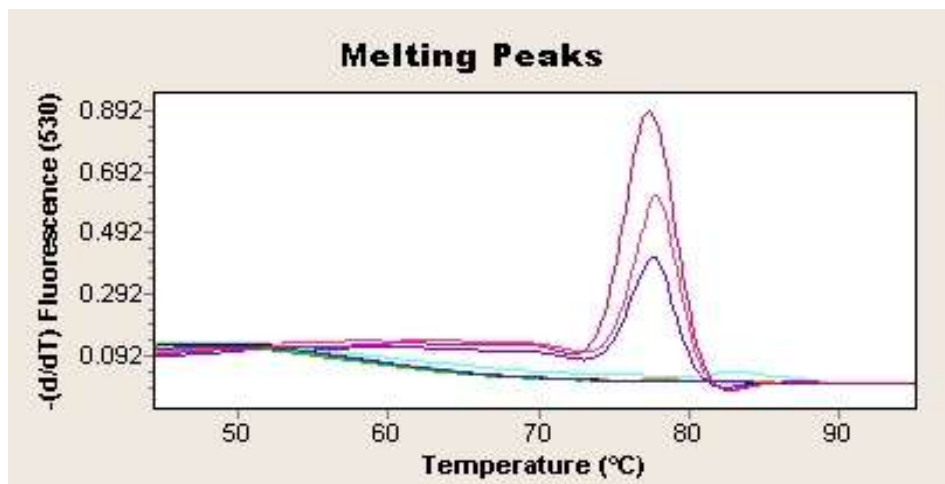


Figura 4. Curva de disociación de los fragmentos amplificados por PCR. Mediante un aumento gradual de la temperatura se consigue la total desnaturalización del ADN. La lectura de la fluorescencia durante este proceso permite analizar la temperatura de fusión de los fragmentos de ADN en función de su tamaño. La temperatura de disociación es la misma en 3 curvas, una corresponde al control positivo y las otras dos a muestras problemas, donde se confirma en éstas, que el fragmento de ADN amplificado en la muestra problema es el que buscamos. En las otras no se encuentra dicho fragmento.

MATERIAL Y MÉTODOS

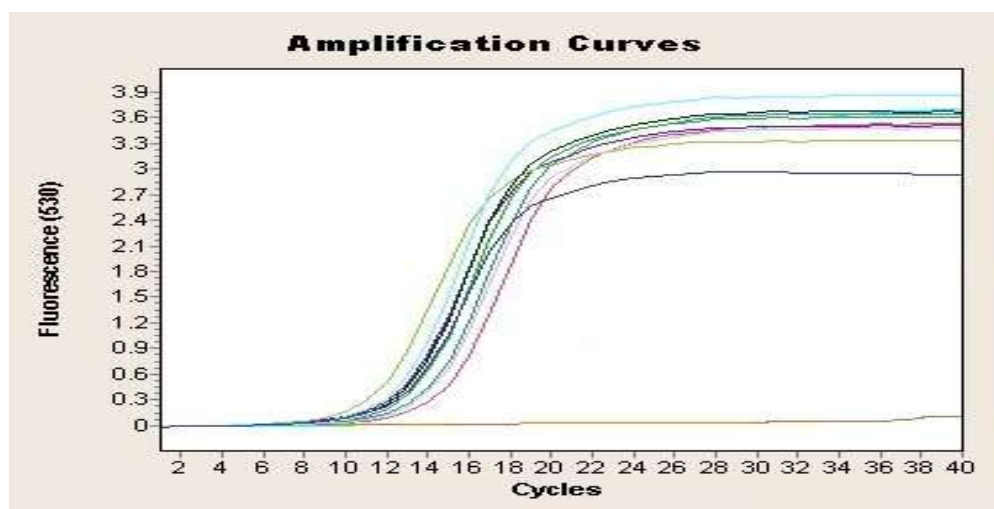


Figura 5. Gráfico de de la reacción de amplificación de ADN. En el gráfico se expresa la fluorescencia leída por el termociclador en el eje de ordenadas y el número de ciclos de la PCR en el eje de abscisas. En el gráfico se observan las curvas correspondientes al control positivo y a las muestras problema; en estas muestras, excepto en una, ha habido amplificación de ADN. Las curvas constan de 3 fases, en la fase inicial la producción de fluorescencia (ADN producto) está por debajo del nivel de detección del termociclador, en la segunda fase hay un incremento de la fluorescencia exponencial y en la tercera fase se estabiliza la fluorescencia ya que ya no hay amplificación de ADN.

Detección e interpretación de los resultados

Los fragmentos de ADN amplificados fueron separados mediante una electroforesis en gel de agarosa al 2% en 0,5xTBE, a 120 voltios durante 60 minutos. El gel fue cargado con el producto amplificado (10 μ L) y buffer de carga, y, se colocó un control de peso molecular Lambda Ladder de 1 kb. Se tiñó con Bromuro de Etidio durante 30 minutos. La visualización de los amplificados se realizó sobre un transiluminador de luz ultravioleta.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las bandas que se observan en el gel cuando estas cepas contienen los genes estudiados son las siguientes (Figura 6):

- *icaA* genera una banda de 188pb
- *icaD* genera una banda de 198pb
- IS256 genera una banda de 762 pb

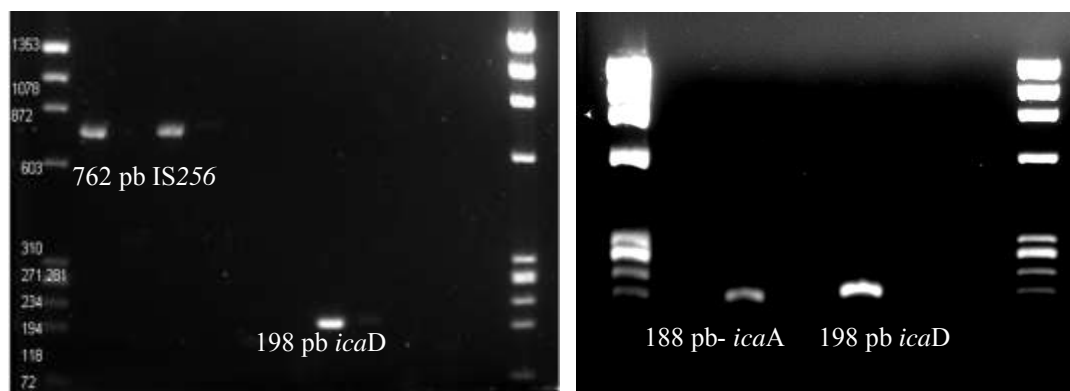


Figura 6. Bandas generadas por los genes *icaA*, *icaD* y secuencia de inserción IS256. En la figura de la izquierda se observa la banda generada por el fragmento amplificado de la secuencia de inserción IS256 que genera una banda de 762 pb (en la figura se observan dos muestras con dicha secuencia) y la banda generada por el gen *icaD* que contiene 198 pb. En los extremos del gel se visualiza el control de peso molecular utilizado, con los pares de bases correspondientes a cada banda. En la figura de la derecha se observan las bandas generadas por el gen *icaA* (188 pb) y el gen *icaD*.

3.7.2. CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA DE LA PRODUCCIÓN DE BIOCAPA

La producción de *biocapa* en todas las cepas fue estudiada mediante el cultivo de las cepas en placas de agar de Rojo Congo [454]. El medio para las placas de agar Rojo Congo fue realizado con 0,8 gramos de Rojo Congo (Sigma-Aldrich) y 36 gramos de sucrosa (Sigma-Aldrich) hasta un litro de agar infusión cerebro corazón (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England). Las placas inoculadas con los aislamientos a

MATERIAL Y MÉTODOS

caracterizar fueron incubadas durante 48 horas a 37°C y posteriormente permanecieron a temperatura ambiente unas 12 horas.

Los aislamientos productores de *biocapa* dan lugar a colonizas negras mientras que los no productores desarrollan colonizas rojas (Figura 7).



Figura 7. Crecimiento de los aislamientos de *S. epidermidis* productores y no productores de *biocapa* en el medio de cultivo Rojo Congo. En la figura de la izquierda se observan colonias de *S. epidermidis* no productoras de *biocapa* por este método. En la figura de la derecha se observan cepas de *S. epidermidis* productoras de *biocapa* mediante el medio de cultivo Rojo Congo.

3.8. CRITERIOS Y DEFINICIÓN DE VARIABLES

Se definieron los siguientes criterios y variables en el estudio:

Paciente: a cada paciente se le asignó un número para su manejo en el análisis y salvaguardar su identidad.

Grupo BRC: es este caso puede aludir a:

Pacientes: grupo de pacientes que desarrollaron al menos un episodio de BRC, documentado con la toma de HC por vena periférica y vía central a través del CVCt y con el cumplimiento de criterios necesario.

Catéteres: grupo de CVCt que desarrollaron episodio de BRC, también documentado adecuadamente. Cada CVCt nuevo insertado en un mismo paciente es susceptible de sufrir un nuevo episodio. Nota: un mismo paciente puede tener diferentes CVCt que pertenezcan a grupos distintos (BRC y No-BRC).

Grupo No-BRC: que puede referirse a:

Pacientes: grupo de pacientes que no desarrollaron episodio de BRC, documentado con la toma de HC por vena periférica y vía central a través de CVCt.

Catéteres: grupo de CVCt que no desarrollaron episodio de BRC, también documentado adecuadamente. Cada CVCt nuevo insertado en un mismo paciente puede también volver a formar de este grupo. Nota: un mismo paciente puede tener diferentes CVCt que pertenezcan a grupos distintos (BRC y No-BRC).

Colonización endoluminal del catéter: se define como el cultivo positivo de al menos una muestra de vigilancia de la colonización endoluminal del CVCt.

Colonización endoluminal del catéter significativa: para microorganismos poco patógenos y residentes de la flora cutánea, como por ejemplo ECN, se define como

MATERIAL Y MÉTODOS

el cultivo positivo de al menos dos muestras de CEC recogidas en diferentes días y comprendidas en el periodo de un mes para especies iguales, basado en la identificación fenotípica y el patrón de sensibilidad antibiótica. En este caso la fecha de procesamiento de la primera muestra queda registrada como el día de la colonización. Para otros microorganismos diferentes a ECN, no considerados como flora residente de piel y más agresivos, como por ejemplo BGN, *S. aureus* y levaduras solo es requerido un cultivo positivo para que un catéter se considere colonizado significativamente.

Bacteriemia Relacionada con el Catéter: son considerados aquellos episodios en los que se diagnostica una BRC según los criterios establecidos. BRC se define como el aislamiento del mismo microorganismo (idéntico biotipo y patrón de sensibilidad) tanto del cultivo de sangre obtenido a través del catéter como del cultivo obtenido a través de vía periférica, siempre y cuando el tiempo de positividad obtenido a través del CVCt sea igual o inferior en 120 minutos del obtenido por vía periférica [335].

No Bacteriemia Relacionada con el Catéter: son considerados aquellos episodios sin signos ni síntomas de BRC, además de poseer cultivos estériles tanto a través de CVCt como vía periférica.

Sepsis: se considera al paciente en situación clínica de sepsis cuando se documenta la presencia de alguna de las siguientes situaciones: temperatura mayor de 38°C o menor de 36°C, frecuencia cardiaca mayor de 90 latidos por minuto, taquipnea, (manifestada por una frecuencia respiratoria superior a mayor de 20 respiraciones por minuto), hiperventilación (manifestada por una PaCO₂ menor de 32 mmHg), alteración en el recuento leucocitario en sangre, leucocitosis (recuento mayor de 12.000 células por mm³), o leucopenia (menor de 4.000 por mm³ y recuento de cayados superior al 10%) [455]. Estos cambios fisiológicos deben representar una alteración aguda de la línea basal, en ausencia además de otros posibles factores que puedan causarlos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Tiempo inserción-colonización: tiempo que transcurre desde la inserción del CVCT hasta el cultivo positivo de una muestra de colonización. Solo se podrá valorar en los pacientes estudiados en el primer episodio que se produzca en cada CVCT.

Tiempo inserción-colonización significativa: tiempo que transcurre desde la inserción del CVCT hasta la CEC significativa de dicho CVCT, por lo que debe cumplir los criterios para considerarlo colonización significativa. Solo se podrá valorar en los pacientes estudiados en el primer episodio que se produzca en cada CVCT.

Tiempo inserción-BRC: tiempo que transcurre desde la inserción del CVCT hasta el desarrollo de un episodio de BRC. Solo se podrá valorar en los pacientes estudiados en el primer episodio que se produzca en cada CVCT.

Tiempo colonización significativa-BRC: tiempo que transcurre desde la detección de colonización significativa hasta el desarrollo de BRC. Solo se podrá valorar en los pacientes estudiados en el primer episodio que se produzca en cada CVCT.

Respecto a las pruebas diagnósticas: en todos los casos el resultado de la prueba está referido al mes anterior en el que sucedió el episodio de BRC o de No-BRC. Se tuvieron en cuenta las siguientes muestras y su resultado positivo o negativo para realizar el análisis:

Cualquier cultivo: se define como el resultado positivo de cualquier muestra tomada.

Cultivo rama arterial: se refiere al resultado positivo del cultivo de las muestras extraídas a través de la rama arterial.

Cultivo rama venosa: se refiere al resultado positivo del cultivo de las muestras extraídas a través de la rama venosa.

Cultivo simultáneo ramas arterial y venosa: resultado positivo de ambas ramas, tanto la arterial como la venosa del CVCT.

MATERIAL Y MÉTODOS

Cultivo de dos muestras consecutivas: resultado positivo de dos muestras iguales en extracciones consecutivas de dos días diferentes.

Cultivo de solución de sellado de heparina: resultado positivo del cultivo del líquido de sellado.

Tiempo de crecimiento de las muestras de colonización endoluminal: este tiempo es inversamente proporcional a la cantidad de inóculo bacteriano que se encuentra en la botella. De esta manera se procedió a calcular la distribución de este tiempo de crecimiento, según las muestras de colonización pertenecieran a los posteriores episodios de BRC, o si por el contrario pertenecieran al grupo No-BRC, significando contaminación o bajo grado de colonización del CVCt. Además, en los episodios de BRC, se diferenciaron aquellos causados por ECN o por otros microorganismos.

3.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todas las variables demográficas, clínicas y microbiológicas fueron recogidas en una base de datos con el programa Microsoft Access para Windows.

Se realizó una estadística descriptiva de las variables recogidas en la totalidad de pacientes y catéteres. Se realizó un análisis comparativo entre el grupo de pacientes que desarrolló BRC y el que no lo hizo (Grupo No-BRC).

Las variables cuantitativas se expresaron con media y desviación estándar (DE). La edad y los datos de tiempos transcurridos, además se expresaron también en medianas. Las variables categóricas se expresaron con su frecuencia.

Las variables cuantitativas continuas se compararon mediante el test t de Student o mediante pruebas no paramétricas (si la muestra era pequeña y se vulneraba el supuesto de normalidad) como el U test de Mann-Whitney.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las variables cualitativas categóricas fueron analizadas mediante la prueba de X^2 . Si alguna de las frecuencias esperadas era menor de 5 se utilizó el test de Fisher.

Para el análisis de los tiempos de crecimiento de las botellas se compararon las horas de crecimiento de los tres grupos (BRC por ECN, BRC por otro microorganismo y No-BRC demostrado por HC estériles) mediante el test de ANOVA.

La tasa de BRC fue calculada como una densidad de incidencia y fue documentada por 1.000 días de catéter. Los grupos de BRC y No-BRC fueron comparados. Así mismo se compararon también los cultivos endoluminales de los grupos de BRC y No-BRC con la finalidad de analizar el significado clínico de las muestras de vigilancia de la CEC en la predicción de la BRC.

Evaluamos la utilidad de las muestras de colonización endoluminal en la predicción de BRC, según el resultado de las siguientes muestras o conjunto de ellas: cualquier cultivo, cultivo rama arterial, cultivo rama venosa, cultivo simultáneo ramas arterial y venosa, cultivo de dos muestras consecutivas, cultivo de la solución de sellado de heparina. Calculamos la sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos e índice de validez (IV), en el pronóstico de BRC para cada muestra o conjunto de muestras, expresados como probabilidad condicional, tomando como referencia el mes anterior al desarrollo de la BRC. La sensibilidad indica la capacidad de la prueba para detectar a un sujeto enfermo, es decir, expresa cuan "sensible" es la prueba a la presencia de la enfermedad. La especificidad indica la capacidad que tiene la prueba de identificar como sanos (no enfermos) a los que efectivamente lo son, es decir, la especificidad es la probabilidad de que la prueba identifique como no enfermo a aquél que efectivamente no lo es. El valor predictivo de una prueba positiva equivale a la probabilidad condicional de que los individuos con una prueba positiva tengan realmente la enfermedad. El valor predictivo de una prueba negativa es la probabilidad

MATERIAL Y MÉTODOS

condicional de que los individuos con una prueba negativa no tengan realmente la enfermedad. Índice de validez o proporción correcta de aciertos, se define como la proporción de individuos clasificados correctamente.

Las diferencias entre los grupos se consideraron significativas cuando el valor de p era $<0,05$.

Los datos se procesaron con los programas EpiInfo (Center for Disease Control, Atlanta, EE.UU.), SPSS[®] (*Statistical Packpage for Social Sciencies*) versión 15 para Windows. (SPSS Inc, Chicago, EEUU) y Epidat 3.0 (Pan American Health Organization).

RESULTADOS

4. RESULTADOS

Los resultados presentados en este estudio representan el análisis correspondiente a 19 meses del estudio de monitorización de los CVCt con *cuff* permanentes en pacientes sometidos a programa regular de HD.

4.1. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN DE PACIENTES EN HEMODIÁLISIS INCLUIDA EN EL ESTUDIO

Durante el periodo de estudio se incluyeron un total de 51 pacientes portadores de 64 CVCt. De los catéteres monitorizados, 51 (79,7%) estaban siendo utilizados al comienzo del estudio, con una media de 283 (DE: 261) días de permanencia y con un rango entre 19 y 1.078 días. Todos los pacientes comenzaron con el CVCt que estaban utilizando para realización de HD. Durante el estudio, 13 CVCt de los 64 monitorizados (20,3%) se retiraron y se volvió a insertar uno nuevo. Por lo tanto, del total de los 64 CVCt monitorizados, 51 ya se estaban insertados al inicio del estudio y 13 se monitorizaron desde el primer día de su inserción. Por otra parte, de los 51 pacientes monitorizados desde el inicio del estudio, 36 (70,6%) pacientes ya habían sido portadores de un CVCt distinto al que se estaba utilizando en el momento de la inclusión en el estudio, es decir, el CVCt incluido en el estudio no era su primer CVCt.

Las características generales de la población estudiada se muestran en la tabla 5. La edad media de los pacientes monitorizados fue de 65,7 años (rango: 27-91 años) y el 53% fueron varones. La causa más frecuente de IRCT por la que los pacientes fueron incluidos en programa regular de HD fue la nefropatía diabética (35,3%). Al inicio del

RESULTADOS

estudio los pacientes llevaban una media de 1.630 días (4 años) con TRS, bien en el mismo centro del estudio u otro centro. La localización más frecuente para el AV de los CVCT en los pacientes fue la vena subclavia (84,4%). Un total de 15 pacientes (40,5%) murieron, ninguno a causa de infecciones relacionadas con el catéter vascular.

Tabla 5. Características demográficas y clínicas de los pacientes en HD incluidos en el estudio.

Variable de estudio	Pacientes N= 51 (%)
Edad (Años)	
Media (DE)	65,7 (15,8)
Mediana (P ₂₅ -P ₇₅)	68,0 (58,0-79,0)
Rango	27-91
Sexo	
Varón	27 (52,9)
Mujer	24 (47,1)
Centro de diálisis	
Centro hospitalario	19 (37,3)
Centro ambulatorio	32 (62,7)
Causa IRCT	
Nefropatía diabética	18 (35,3)
IRCT de etiología desconocida	13 (25,5)
Nefropatía Vascular	8 (15,7)
Glomerulonefritis	5 (9,8)
Enfermedad sistémica	3 (5,9)
Otros	4 (7,8)
Localización CVCT N= 64	
Vena subclavia	54 (84,4)
Vena yugular	9 (14,1)
Vena femoral	1 (1,6)
Días de monitorización del CVCT	
Total	12.701
Media (DE)	249,0 (136,5)
Mediana (P ₂₅ -P ₇₅)	227,0 (125,5-338,0)
Nº de CVCT monitorizados durante el estudio	64

RESULTADOS

Nº CVCT con episodio de BRC	14 (21,9)
Mortalidad por todas las causas	15 (29,4)
Mortalidad por episodio de BRC	0
Tiempo en HD previo al inicio del estudio	
Días: Media (DE)	1.630,31 (2.935,2)
Años: Media (DE)	4,5 (8,0)
CVCT previos antes del inicio del estudio	91
Pacientes portadores de los CVCT previos	36 (70,6)
Pacientes con 1 CVCT previo	14 (27,5)
Pacientes con 2 CVCT previos	9 (17,6)
Pacientes con 3 CVCT previos	7 (13,7)
Pacientes con >3 CVCT previos	6 (11,8)
CVCT previos retirados por infección antes del inicio del estudio	28 (30,8)
Pacientes portadores de los CVCT previos retirados por infección	17 (33,3)

Los pacientes incluidos en el estudio provenían de dos centros de HD distintos, uno hospitalario y otro ambulatorio. Con el fin de estudiar la homogeneidad de la población entre ambos centros, se compararon las características demográficas y clínicas de ambos grupos de pacientes, así como el tiempo previo que habían permanecido en HD antes de ser incluidos en el estudio y el tiempo de seguimiento del CVCT que portaban durante el estudio (Tabla 6).

En el centro hospitalario, se dializaron durante el estudio, el 37,3% de los pacientes y el 62,7% en el centro ambulatorio. Como se muestra en la tabla 6, la población estudiada respecto a las variables analizadas, presentó homogeneidad en cuanto a la distribución entre ambos centros.

Del total de 51 pacientes que se monitorizaron, 28 (54,9%), abandonaron el estudio por diferentes causas, que se detallan en la figura 8. El resto, 23 pacientes, finalizaron el

RESULTADOS

periodo de monitorización cuando el estudio llegó a su término. Como se muestra en la figura 8, el 29,4% de los pacientes murieron durante el periodo de realización del estudio. El 3,9% no continuaron en el estudio porque se les realizó un trasplante de riñón y fueron retirados del programa de HD. El 13,7% y el 7,8% también fueron retirados por realización de fístula y traslado a otro centro, respectivamente.

Tabla 6. Comparación de las características demográficas y clínicas de los pacientes incluidos en el estudio según el centro de diálisis

CENTRO de DIÁLISIS			
	Hospitalario	Ambulatorio	P
	Pacientes N=19 (%)	Pacientes N=32 (%)	
Edad (Años)			
Media (DE)	64,1 (12,4)	66,7 (17,7)	0,571
Mediana (P ₂₅ -P ₇₅)	64,0 (59,0-75,0)	72,5 (55,5-80,75)	
Rango	33-79	27-91	
Sexo			
Mujer	9 (47,4)	15 (46,9)	0,973
Varón	10 (52,6)	17 (53,1)	
Causa IRCT			
Nefropatía diabética	6 (31,6)	12 (37,5)	0,668
Etiología desconocida	4 (21,1)	9 (28,1)	0,415
Nefropatía Vascular	4 (21,1)	4 (12,5)	0,333
Glomerulonefritis	2 (10,5)	3 (9,4)	0,623
Enfermedad sistémica	2 (10,5)	1 (3,1)	0,309
Otros	1 (5,3)	3 (9,4)	0,521
Días de monitorización del CVCt			
Total	5.212	7.489	0,313
Media (DE)	274,3 (160,1)	234,0 (120,6)	
Mediana (Q25-75)	272,0 (127,0-436,0)	223,0 (114,0-328,0)	
Tiempo en HD antes de iniciar el estudio			
Media (DE)	1.477,5 (1.590,2)	1.721,0 (3.522,0)	0,070
Mediana (P ₂₅ -P ₇₅)	1.041,0 (477,0-1.983,0)	876,0 (382,0-1.568,0)	

RESULTADOS

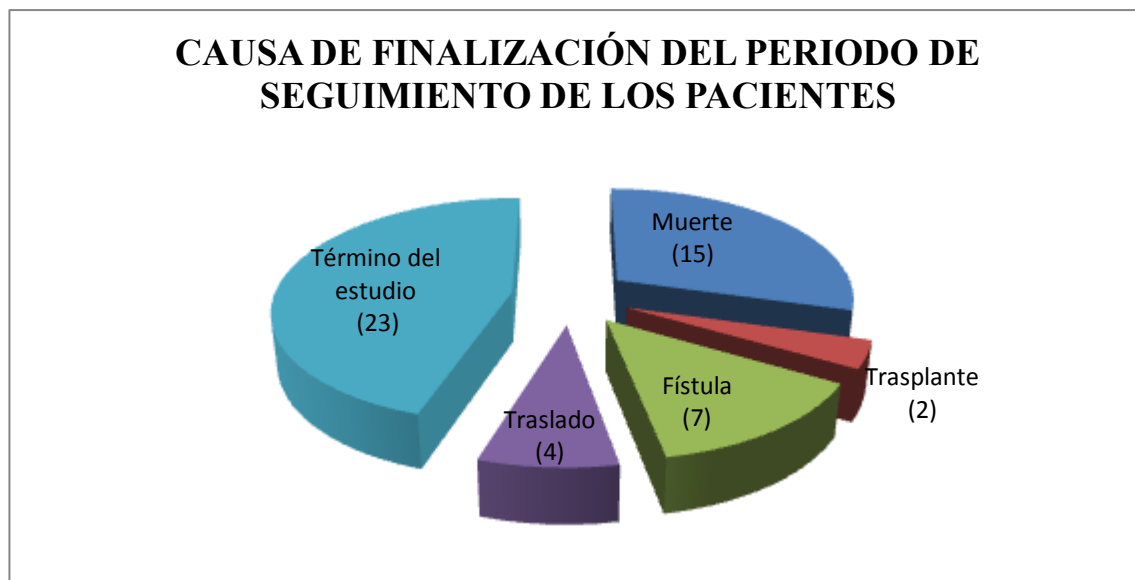


Figura 8. Causas que motivaron la finalización del periodo de monitorización de los pacientes. Entre paréntesis aparece el número de pacientes

Respecto al número de CVCT retirados durante el estudio, a continuación se citan el número de ellos, pacientes en los que retiraron y la causa. Durante el periodo de estudio se retiraron 13 CVCT correspondientes a 11 pacientes que se estaban monitorizando, y se insertaron un total de 13 nuevos CVCT. Estos pacientes continuaron el estudio. En total, 40 pacientes portaron 1 CVCT, 9 pacientes portaron 2 CVCT y 2 pacientes 3 CVCT durante el estudio. De los 13 CVCT retirados, en 10 (76,9%) casos la causa de la retirada fue por mal función del catéter, y en 3 (23,1%) por infección, concretamente por BRC. Por lo tanto, se retiraron 13 CVCT del total de 64 CVCT (20,3%) monitorizados durante el periodo de estudio.

4.2. BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER EN LOS PACIENTES EN HEMODIÁLISIS DURANTE EL PERIODO DE ESTUDIO

Durante los 19 meses de estudio, 14 pacientes (27,5%) portadores de 14 CV Ct desarrollaron 21 episodios de BRC. En total se monitorizaron 64 CV Ct. Los 14 pacientes que desarrollaron BRC, portaron en total durante todo el periodo de estudio, 20 CV Ct, de los cuales como se ha mencionado anteriormente, 14 desarrollaron BRC. Los 37 pacientes que no desarrollaron BRC, portaron un total de 44 CV Ct. En total, durante la duración del estudio hubo 50 CV Ct que no desarrollaron BRC y 14 que sí lo hicieron (Figura 9).

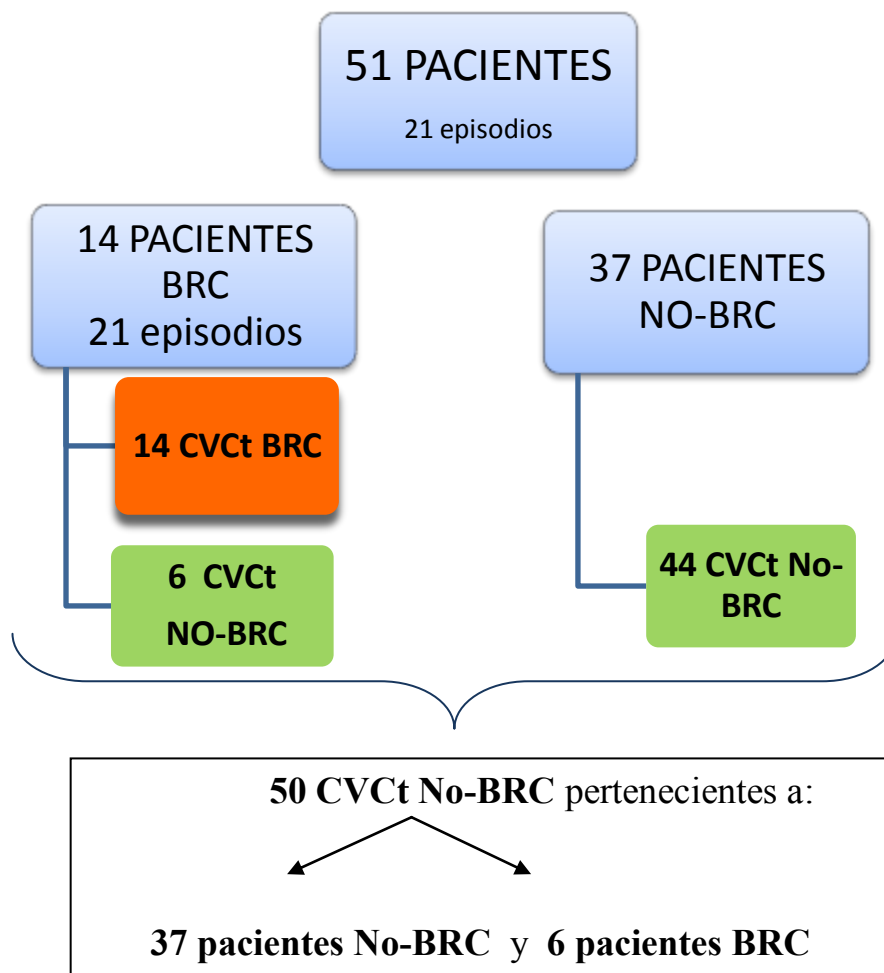


Figura 9. Esquema del número de pacientes y CV Ct que participaron en el estudio, clasificado por su implicación en BRC.

RESULTADOS

4.2.1. INCIDENCIA DE BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER

La tasa global de BRC durante el periodo de estudio fue de 1,65 episodios de BRC por 1.000 días de catéter. En el centro hospitalario, se monitorizaron 19 pacientes, de ellos, en 7 pacientes, se registraron 14 episodios de BRC, resultando una tasa de BRC de 2,69 episodios de BRC por 1.000 días de catéter. En el centro ambulatorio, de un total de 32 pacientes en seguimiento, se registraron 7 episodios de BRC en 7 pacientes, resultando una tasa de 0,93 episodios de BRC por 1.000 días de catéter. La comparación de la diferencia de tasas de BRC entre los centros resultó ser significativa, $p=0,032$ (Tabla 7).

Tabla 7. Pacientes y número de episodios de BRC desarrollados y comparados según centro de hemodiálisis.

	Total 51 (%)	CENTRO de DIÁLISIS		P
		Hospitalario Pacientes N=19 (%)	Ambulatorio Pacientes N=32 (%)	
Pacientes con episodio de BRC	14 (27,5)	7 (36,8)	7 (21,9)	0,247
Nº de episodios de BRC	21	14	7	-
Tasa BRC	1,65	2,69	0,93	0,032

Tasa de BRC: (expresada por 1.000 días de catéter).

Tres pacientes de los 14 que desarrollaron episodios BRC (21,4%), desarrollaron episodios recurrentes sobre el mismo CVCT. Un paciente desarrolló dos episodios por diferente microorganismo, el primero por *E. faecalis* y el segundo por *S. epidermidis*, con una separación en el tiempo entre ambos episodios de 145 días. Un segundo

RESULTADOS

paciente desarrolló 4 episodios de BRC, por el mismo microorganismo (*S. epidermidis*), con un periodo de días entre episodios de 77 (entre el primer y segundo episodio), 89 (entre el segundo y tercer episodio) y 134 (entre el tercer y cuarto episodio). El tercer paciente desarrolló cuatro episodios. En los tres primeros, estuvo presente *S. maltophilia*, y en el primero además *S. epidermidis*. El último episodio fue causado por *E. faecalis* y *S. epidermidis*. El periodo entre episodios fue de 26 (entre el primer y segundo episodio), 34 (entre el segundo y tercer episodio) y 149 días (entre el tercer y cuarto episodio).

Por lo tanto, de los 21 episodios de BRC acaecidos durante el periodo de estudio, 7 (33,3%) se consideraron BRC recurrentes. Dichas recurrencias se registraron en los pacientes que se dializaron en el centro hospitalario. En 6 casos, en los episodios recurrentes hubo implicación de los microorganismos aislados en BRC anteriores y en un paciente que sufrió dos episodios, los microorganismos identificados fueron diferentes (Tabla 9, paciente 5). Hay que señalar que en un paciente (Tabla 9, paciente 3), en el último episodio desarrollado, se aisló un microorganismo aislado previamente (*S. epidermidis*) en el primer episodio de BRC, que no se aisló en el segundo y tercer episodio. En este cuarto episodio además apareció otro microorganismo no aislado previamente (*E. faecalis*).

4.2.2. CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS Y CLÍNICAS DE LOS PACIENTES QUE DESARROLLARON BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER

Con el objetivo de averiguar si existía alguna variable demográfica y/o clínica que aumentara el riesgo de desarrollar BRC, se compararon dichas variables en los pacientes, según el desarrollo o no de BRC (Tabla 8).

RESULTADOS

De los 51 pacientes monitorizados durante el periodo de estudio, 14 pacientes (27,5%) desarrollaron al menos 1 episodio de BRC, y 37 pacientes no desarrollaron ningún episodio de BRC (grupo No-BRC). La comparación de las características de los pacientes que desarrollaron BRC a lo largo del estudio, con las de aquellos otros que nunca desarrollaron BRC, mostró que, en general, ambos grupos eran muy similares en todas las variables analizadas. En la tabla 8 se muestra la comparación de los pacientes según la edad, sexo, centro al que acudían a HD, la causa de IRCT, localización del CVCT, tiempo de monitorización de los CVCT incluidos en el estudio, si habían portado o no CVCT previos, número de catéteres previos portados con anterioridad al inicio de dicho estudio y tiempo que habían permanecido en HD previamente al inicio de dicho estudio.

De los 14 pacientes que desarrollaron BRC, 7 (50%), pertenecían al centro hospitalario y los 7 restantes (50%) al centro ambulatorio, no habiendo diferencias en este sentido. Respecto de cada centro, de los 19 pacientes que se dializaron en el centro hospitalario, los 7 pacientes que desarrollaron al menos un episodio de BRC representaban el 36,8%. En el centro ambulatorio, los 7 pacientes que desarrollaron episodios de BRC representaban el 21,9%. El análisis indica que tampoco en este caso hubo diferencias significativas entre centros ($p=0,247$).

En cuanto a las variables relacionadas con el CVCT, la localización del catéter en los pacientes fue mayoritariamente en la vena subclavia (80,4% en el total de pacientes), 81,1% en el grupo de BRC y 78,6% en el grupo de No-BRC ($p=0,842$). Por otra parte, 36 pacientes (70,6%) habían tenido previamente al inicio de este estudio CVCT, un 78,6% de los pacientes que desarrollaron BRC y un 67,6% del grupo No-BRC ($p=0,343$). Se analizó la relación entre el número de CVCT que había portado cada paciente y el desarrollo de BRC, y se observó que de los 14 pacientes que desarrollaron

RESULTADOS

BRC, 4 (28,6%) pacientes habían portado más de 3 CVCT en comparación con 2 (5,4%) pacientes de los 37 que no habían desarrollado BRC ($p=0,041$). Por lo tanto, excepto el hecho de haber portado más de 3 CVCT, no se encontró otra variable que pudiera relacionarse con el desarrollo de BRC.

Tabla 8. Comparación de las características clínicas y demográficas de los pacientes respecto al desarrollo de BRC.

	Pacientes que desarrollaron BRC N=14 (%)	Pacientes que no desarrollaron BRC N=37 (%)	P
Edad			
Media (DE)	59,6 (17,91)	68,0 (14,6)	0,205
Mediana (P ₂₅ -P ₇₅)	60,0 (49,5-71,0)	71,0 (60,5-79,0)	
Sexo			
Varón	9 (64,2)	18 (48,6)	0,318
Mujer	5 (37,7)	19 (51,4)	
Centro de HD			
Centro hospitalario	7 (50)	12 (32,4)	0,247
Centro ambulatorio	7 (50)	25 (67,6)	
Causa IRCT			
Nefropatía diabética	7 (50)	11 (29,7)	0,181
Etiología desconocida	2 (14,3)	11 (29,7)	0,263
Nefropatía Vascular	0 (0)	8 (21,6)	0,088
Glomerulonefritis	2 (14,3)	3 (8,1)	0,512
Enfermedad sistémica	1 (7,1)	2 (5,4)	0,816
Otros	2 (14,3)	2 (5,4)	0,297
Localización CVCT			
Vena Subclavia	11 (78,6)	30 (81,1)	0,842
Vena Yugular	3 (21,4)	6 (16,2)	0,725
Vena Femoral	0 (0)	1 (2,7)	0,666

RESULTADOS

Días de Monitorización del			
CVCt			
Media (DE)	339,9 (137,60)	214,7 (120,87)	0,706
Mediana (P ₂₅ -P ₇₅)	343,0 (221,0-445,0)	215,0 (104,0-322,0)	
Catéter previo			
Si	11 (78,6)	25 (67,6)	0,343
No	3 (21,4)	12 (32,4)	
Nº CVCt previos			
Ningún catéter previo	3 (21,4)	12 (32,4)	0,343
1 catéter previo	3 (21,4)	11 (29,7)	0,414
2 catéteres previos	2 (14,3)	7 (18,9)	0,526
3 catéteres previos	2 (14,3)	5 (13,5)	0,629
>3 catéteres previos	4 (28,6)	2 (5,4)	0,041
Tiempo en HD previo al inicio			
del estudio			
Días: Media (DE)	1.946,7 (1.949,2)	1.510,6 (3.246,5)	0,633
Años: Media (DE)	5,3 (5,3)	4,1 (8,8)	

4.2.3. CARACTERÍSTICAS Y MANEJO CLÍNICO DE LOS EPISODIOS DE BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER

De los 21 episodios de BRC documentados, 18 (85,7%) infecciones fueron causadas por un solo microorganismo, es decir, infecciones monomicrobianas; 16 episodios (76,2%), fueron causados por microorganismos gram positivos y 2 episodios (9,5%) por gram negativos. Las 3 infecciones restantes (14,3%), fueron causadas por más de un microorganismo, es decir fueron infecciones mixtas o polimicrobianas (en una ocasión por dos microorganismos gram positivos, *S. epidermidis* y *E. faecalis*, y los dos episodios restantes uno por *S. epidermidis* y *S. maltophilia*, y el último episodio por *E. coli* y *E. faecalis*). Los microorganismos gram positivos estuvieron presentes en 19

RESULTADOS

ocasiones (90,5%) y los gram negativos en 4 (19,5%) de los 21 episodios. Los ECN fueron los microorganismos más frecuentemente aislados como causantes de BRC, siendo en 14 (66,7%) ocasiones aislados en solitario, y estuvieron presentes en un total de 16 episodios (76,2%) correspondientes a un total de 10 pacientes. Todos los ECN aislados en los HC, en los episodios de BRC, fueron identificados con *S. epidermidis*.

En la figura 10, se resumen, la totalidad de pacientes y CVCT que participaron en el estudio. En cada paciente se esquematiza el número de CVCT que portó, en qué momento se comenzó a monitorizar cada catéter, si sufrió episodio de BRC y colonización significativa. En la tabla 9 se muestran detalladamente los episodios de BRC ocurridos durante el estudio. Se incluye el número asignado al paciente durante el estudio (Id. paciente), la fecha en la que ocurrieron los episodios, los días que llevaba insertado el CVCT en el momento de la BRC (Días CVCT), días que el CVCT llevaba en estudio (Días monitorización), así como el microorganismo aislado, el tratamiento recibido por el paciente y la necesidad o no de retirar el CVCT una vez recibido el tratamiento (Retirada de CVCT).

En todos los pacientes se realizó tratamiento sistémico intravenoso y sellado del CVCT. La duración del tratamiento fue de 14 días. Todos los episodios tratados sistémicamente con vancomicina se sellaron también con este antimicrobiano. Un paciente recibió tratamiento sistémico y de sellado con ceftazidima (en el tratamiento de *S. maltophilia*), y otro recibió tratamiento sistémico con gentamicina y ampicilina y sellado con gentamicina (*E. coli* y *E. faecalis*). El resultado del tratamiento se monitorizó mediante la realización de HC de control y seguimiento de las variables clínicas correspondientes del paciente, por parte de los nefrólogos. De esta manera se consiguió la conservación del catéter en 18 de los 21 episodios. En tres episodios de BRC el manejo clínico de la infección incluyó la retirada del CVCT. En los tres casos de

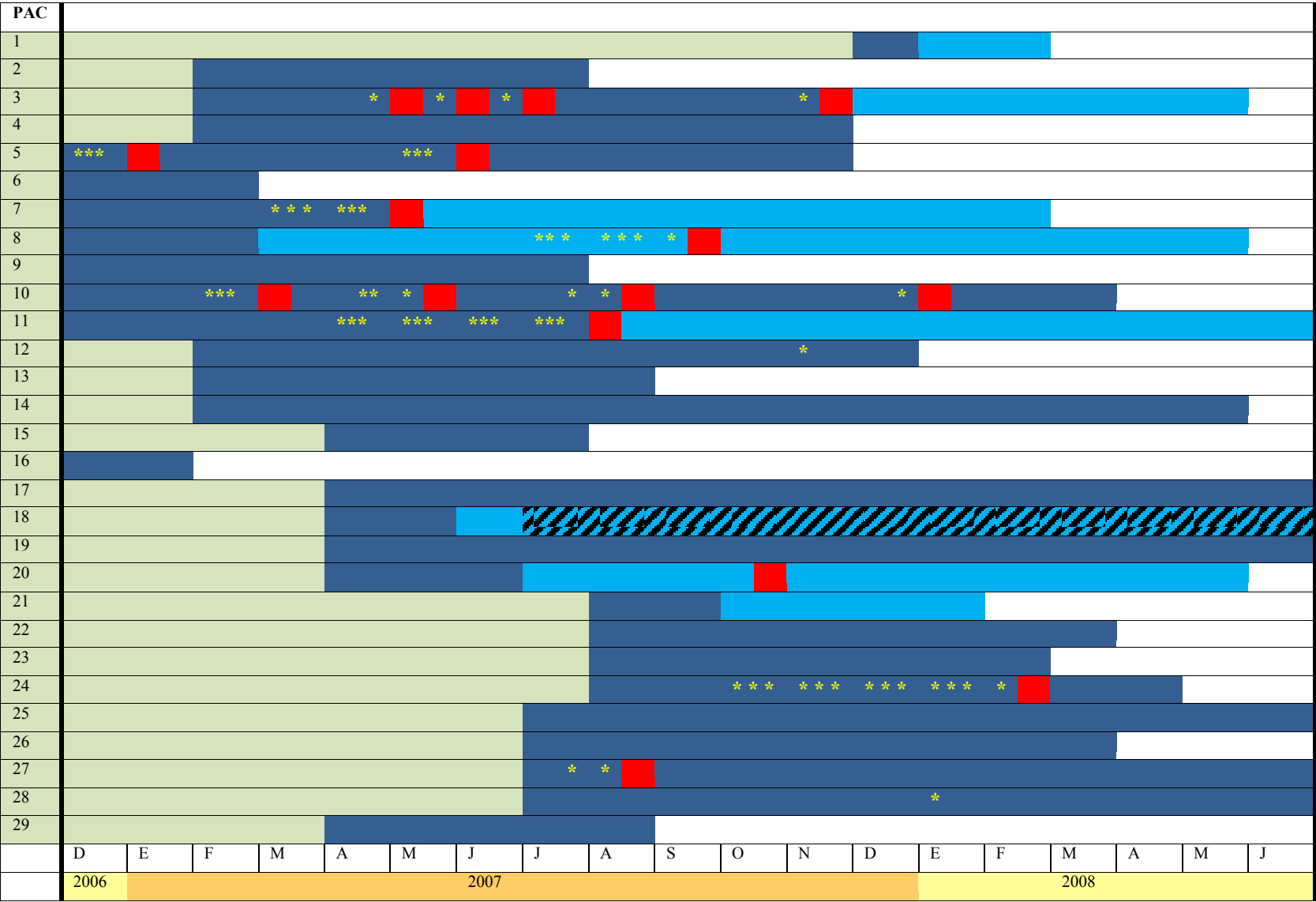
RESULTADOS

retirada del CVCT, el cultivo realizado sobre la punta del CVCT mostró crecimiento con el mismo microorganismo que el de los HC tomados a través del CVCT y de la vía periférica.

De los 14 pacientes que desarrollaron BRC, 3 pacientes en 5 episodios de los 21 registrados, presentaron manifestaciones clínicas de infección. Tres episodios fueron causados por *S. maltophilia*, uno por *E. coli* y *E. faecalis*, y el último por *S. epidermidis*, lo que supone un porcentaje del 76,2% de BRC sin manifestaciones clínicas. En los 4 primeros casos descritos, los pacientes presentaron signos y síntomas agudos de sepsis unos minutos después de conectarse al equipo de HD. En los 14 episodios de BRC causados por *S. epidermidis*, en uno hubo manifestaciones clínicas, lo que supone una tasa de BRC asintomática del 92,9% en BRC causadas por *S. epidermidis* en nuestro estudio.

Tan sólo 2 pacientes (14,3%) de los 14 que sufrieron BRC, precisaron ingreso hospitalario, en los demás pacientes la infección se resolvió con tratamiento extrahospitalario.

Figura 10.



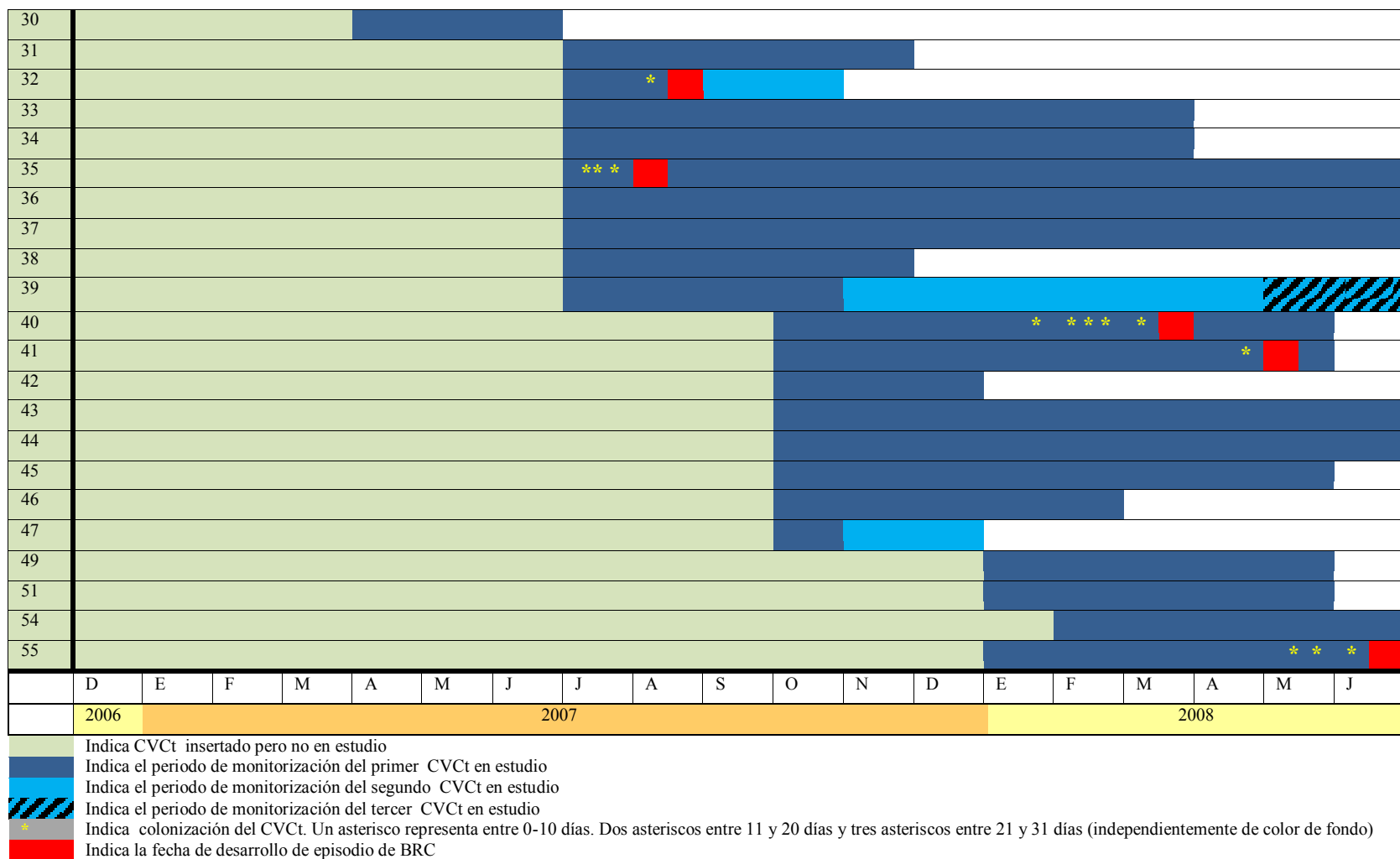


Figura 10. Esquema del número total de pacientes, CVt que participaron en el estudio, muestras de colonización significativa y episodios de BRC. En cada paciente se señala el número de CVt que portó cada paciente, cuando se inició estudio, si sufrió colonización significativa y episodio de BRC.

Tabla 9. Descriptivo de los episodios de BRC.

ID PACIENTE	FECHA BRC	DÍAS CVCt	DÍAS MONITORIZACIÓN	MICROORGA- NISMO	TRATAMIENTO	RETIRADA DE CVCt
3	03/05/07	189	63	<i>S. maltophilia</i> y <i>S. epidermidis</i>	Cotrimoxazol, Genta- micina y Vancomicina	No
3	06/06/07	223	97	<i>S. maltophilia</i>	Ceftazidima	No
3	2/07/07	249	123	<i>S. maltophilia</i>	Ceftazidima	No
3	30/11/07	398	272	<i>S. epidermidis</i> y <i>E. faecalis</i>	Vancomicina	No
5	01/02/07	110	35	<i>E. faecalis</i>	Vancomicina	No
5	26/06/07	255	180	<i>S. epidermidis</i>	Vancomicina	No
7	03/05/07	561	79	<i>S. epidermidis</i>	Vancomicina	Si
8	18/09/07	172	172	<i>S. epidermidis</i>	Vancomicina	No
10	09/03/07	577	110	<i>S. epidermidis</i>	Vancomicina	No
10	25/05/07	654	187	<i>S. epidermidis</i>	Vancomicina	No
10	23/08/07	743	276	<i>S. epidermidis</i>	Vancomicina	No
10	03/01/2008	877	410	<i>S. epidermidis</i>	Vancomicina	No

Continuación **tabla 9.**

ID. PACIENTE	FECHA BRC	DÍAS CVCt	DÍAS MONITORIZACIÓN	MICROORGA- NISMO	TRATAMIENTO	RETIRADA DE CVCt
11	7/8/07	1308	223	<i>S. epidermidis</i>	Vancomicina	Si
20	16/10/07	394	183	<i>S. epidermidis</i>	Vancomicina	No
24	26/02/2008	313	173	<i>S. epidermidis</i>	Vancomicina	No
27	13/8/07	1122	14	<i>S. epidermidis</i>	Vancomicina	No
32	19/7/07	21	2	<i>E. coli/ E. faecalis</i>	Gentamicina y Ampicilina	Si
35	25/6/08	429	339	<i>S. epidermidis</i>	Vancomicina	No
40	26/03/08	590	240	<i>S. epidermidis</i>	Vancomicina	No
41	08/05/08	217	177	<i>Corynebacterium</i> spp.	Vancomicina	No
55	16/06/08	151	37	<i>S. epidermidis</i>	Vancomicina	No

RESULTADOS

4.2.4. RELACIÓN DEL TIEMPO DE PERMANENCIA Y MONITORIZACIÓN DEL CATÉTER CON EL DESARROLLO DE BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER

Con el objetivo de profundizar en una posible relación entre el tiempo de permanencia del catéter y el desarrollo de BRC, se analizó en los CVCT de estos pacientes el tiempo que llevaban insertados dichos catéteres, y se comparó con el de los pacientes que no desarrollaron BRC. También se analizó la duración del tiempo de estudio de cada CVCT, con el fin de hallar si en el estudio de las poblaciones se había cometido algún sesgo, es decir, si se habían estudiado durante más tiempo unas que otras.

Para este análisis se tuvo en cuenta sólo el primer episodio de BRC en el grupo de los pacientes que desarrollaron dicha infección y la primera toma de HC con resultado estéril en el caso de los pacientes incluidos en el grupo de las No-BRC (si durante la totalidad de duración del estudio se hubieran tomado varios HC en un mismo CVCT de un paciente). Una vez que el CVCT había sufrido tratamientos antibióticos, no se podían calcular estas variables, puesto que no reflejarían la realidad de la dinámica de colonización natural, por lo tanto en los segundos y sucesivos episodios no es posible calcular ciertas variables.

Por ello en el grupo de las No-BRC para este cálculo, el grupo fue de 16 pacientes, que correspondió con aquéllos pacientes pertenecientes al grupo de las No-BRC, de los que sí se tenían datos de HC estériles y la primera fecha de éstos. En estos 16 pacientes se pudo demostrar ausencia de BRC mediante la toma de HC centrales y periféricos, y obtención de resultado negativo. Primero se comprobó el tiempo de permanencia del CVCT en cada uno de los grupos de pacientes. Aunque la media de días

RESULTADOS

de permanencia fue superior en el grupo de pacientes que desarrolló BRC, 442,8 *versus* 348,4 días, esta diferencia no resultó significativa ($p=0,389$).

A continuación, se analizó si el grupo de pacientes que había desarrollado BRC había sido estudiado durante más tiempo, habiendo podido conceder de esa forma mayor posibilidad de que se desarrollara un episodio de BRC en ese grupo de pacientes. Se registró la fecha de BRC, en el grupo de pacientes que desarrollaron dicha infección, y, la fecha de HC estéril en el grupo No-BRC, y se calculó el tiempo que llevaban monitorizándose los CVCT en ese momento. La media de días de seguimiento fue similar en ambos grupos, 131,9 en el grupo de pacientes que desarrolló BRC y 142,7 días en el grupo que no lo hizo ($p=0,795$) (Tabla 10).

Tabla 10. Tiempos de permanencia y monitorización de los CVCT en el grupo BRC *versus* No-BRC

	Pacientes BRC N=14 (14 CVct)	Pacientes No-BRC N=16 (16 CVct)	p
Días de permanencia del CVct			
Media (DE)	442,8 (378,9)	348,4 (268.7)	0,389
Mediana (P ₂₅ -P ₇₅)	356,0 (179,0-577,0)	344,0 (113,0-493,0)	
Días de monitorización del CVct			
Media (DE)	131,9 (99,2)	142,7 (122,2)	0,795
Mediana (P ₂₅ -P ₇₅)	141,0 (37,0-183,0)	115,0 (29,5-254,0)	

RESULTADOS

4.2.4.1. RELACIÓN DEL TIEMPO DE PERMANENCIA Y MONITORIZACIÓN DEL CATÉTER CON EL DESARROLLO DE BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER EN *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*

Un análisis similar se realizó sobre el grupo de pacientes que desarrolló BRC por *S. epidermidis* en comparación con los pacientes que no lo hicieron. En este sentido, tanto el tiempo de permanencia del CVCt como el tiempo de estudio del catéter fueron muy similares a los calculados en el apartado anterior para el grupo que desarrolló BRC, no registrándose tampoco diferencias en comparación con el grupo que no desarrolló dicha infección (Tabla 11).

Tabla 11. Tiempos de permanencia y de monitorización de los CVCt en el grupo BRC por *S. epidermidis* versus No-BRC

	Pacientes BRC por <i>S. epidermidis</i> N=10	Pacientes No-BRC N=16	P
Días de permanencia del CVCt			
Media (DE)	565,9 (381,8)	348,4 (268,7)	0,106
Mediana (P ₂₅ -P ₇₅)	501,0 (313,0-590,0)	344,0 (130,0-493,0)	
Días de monitorización del CVCt			
Media (DE)	157,0 (99,3)	142,7 (122,2)	0,596
Mediana (P ₂₅ -P ₇₅)	172,5 (76,0-223,0)	115,0 (29,5-254,0)	

RESULTADOS

4.2.5. TIEMPO TRANSCURRIDO ENTRE LOS EPISODIOS DE BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER

Por otra parte, en los pacientes que desarrollaron múltiples episodios de BRC, se analizó el tiempo transcurrido entre episodios, una vez que el CVCT ya había sufrido el primer episodio de colonización y de BRC. Con ello se pretendía averiguar si el tiempo que tardaba en desarrollarse una nueva BRC en un CVCT que había sufrido una infección previa, disminuía en contraposición con el hallado en el primer episodio que tuvo lugar en dicho catéter.

El primer episodio de BRC en los 14 pacientes, se desarrolló tras una media de 443 días desde la inserción del CVCT. En los 3 pacientes que desarrollaron un total de 10 episodios de BRC, en éstos, un segundo o sucesivos episodios, sucedió en 7 ocasiones. Un paciente desarrolló un segundo episodio y dos pacientes un tercer y cuarto episodio. Sin embargo, en comparación con los 443 días que tardó en desarrollarse el primer episodio, la media de días transcurridos entre episodios fue de 93,4 (DE: 47,5) y la mediana de 89 días (P_{25} - P_{75} : 55,5-139,5). Los microorganismos involucrados fueron *S. maltophilia*, *E. faecalis* y *S. epidermidis*. El tiempo registrado entre el primer y el segundo episodio, calculado en los tres segundos episodios que se dieron, fue de media de 89,3 (DE: 45,3) días y de mediana de 89,0 (P_{25} - P_{75} : 61,5-117,0) días.

4.3. DINÁMICA DE COLONIZACIÓN ENDOLUMINAL DEL CATÉTER VENOSO CENTRAL TUNELIZADO

Con la intención de estudiar la dinámica de colonización endoluminal del catéter se realizaron periódicamente cultivos de vigilancia. Las muestras utilizadas para monitorizar dicha colonización fueron: el cultivo de la mezcla de sangre y solución de sellado de heparina y/o la solución de sellado de heparina. Ambas muestras, podían ser obtenidas, tanto de la rama arterial como de la rama venosa. En cada intervención por lo tanto, podían obtenerse un máximo de 4 muestras. En los apartados siguientes se presentan los resultados del estudio de estas muestras.

4.3.1. RESULTADOS GENERALES

En los 51 pacientes participantes del estudio se obtuvieron un total de 1.521 muestras de vigilancia de la CEC, obtenidas en un total de 684 intervenciones. De éstas, 1.351 fueron muestras de mezcla de sangre y solución de sellado de heparina que se cultivaron en las botellas de HC: 654 de la rama arterial, 654 de la rama venosa y 43 en las que la procedencia de la rama no se registró (dentro de este tipo de muestras, se recogieron parejas de botellas con procedencia no registrada de un paciente, o bien una sola botella sin procedencia tampoco registrada, también perteneciente a un paciente). Las 170 muestras restantes fueron soluciones de heparina, comprendidas en 144 de la rama venosa y 26 de la rama arterial (Figura 11). En todas las muestras de heparina se registró correctamente la procedencia.

La media de intervenciones realizadas durante el periodo de estudio por paciente fue de 13,4 (rango: 2-28). La media del número de muestras por paciente fue de 29,8

RESULTADOS

(rango: 6-59 muestras). Si se tienen en cuenta el total de días de seguimiento de los CVCT y se divide entre el número de intervenciones, resulta una media de 18,6 días (rango 2-56) entre una intervención y otra, es decir, en la totalidad del periodo de estudio, se tomaron muestras cada 18,6 días de media.

En el estudio, se monitorizaron 51 pacientes y 64 CVCT. De estos 64 CVCT, 14 catéteres (pertenecientes a 14 pacientes) desarrollaron BRC, y 50 CVCT no lo hicieron. Estos 50 CVCT que no desarrollaron BRC, pertenecían 6 al grupo de los pacientes que desarrolló BRC y 44 al grupo de pacientes que no desarrolló BRC (puesto que hubo pacientes BRC que portaron más de un CVCT, pero sólo desarrollaron BRC en uno de los CVCT). Cada catéter fue seguido una media de 198,5 días (DE: 124,5). La media de intervenciones fue de 10,7 (rango 2-28) por CVCT. En el grupo de los CVCT que desarrolló BRC, la media de intervenciones fue de 13,3 intervenciones (rango: 2-23), y en los CVCT No-BRC fue de 10,0 intervenciones (rango: 2-28), la p fue de 0,118. El número de muestras tomadas por CVCT fue de media de 23,8 (rango: 5-59). En el grupo de CVCT que desarrolló BRC (14 CVCT), se tomaron en total 421 muestras, con una media de 30,1 muestras por CVCT (rango: 9-58), y en los 50 CVCT que no desarrollaron BRC, 1.100 muestras, con una media de 22,0 muestras por CVCT (rango: 5-59), $p=0,068$.

En total hubo 211 muestras positivas de las 1.521 cultivadas, lo que supone un 13,9% de positividad global.

Del total de 1.351 botellas cultivadas, 178 (13,2%) positivizaron, detectando crecimiento en el lumen del catéter. De las 654 botellas cultivadas procedentes de la rama arterial, 107 obtuvieron resultado positivo en el cultivo (16,4%), y de las 654 procedentes de la rama venosa, 65 fueron positivas (9,9%). La rama arterial resultó positivizar en mayor porcentaje en las muestras de monitorización de CEC en las

RESULTADOS

muestras que contenían sangre y heparina. En comparación con la rama venosa, esta diferencia de porcentaje fue significativa ($p < 0,001$). En 6 muestras positivas no se registró la procedencia de la misma, suponiendo un porcentaje del 0,4% respecto del total de botellas cultivadas.

En total, de las 170 muestras de solución de sellado de heparina recogidas, positivizaron 33, lo que supuso un 19,4% de positividad en este tipo de muestras. Entre las muestras de heparina cultivadas, se registraron 13 positivas (50%) de las 26 procedentes de la rama arterial, y 20 positivas (13,9%) de la rama venosa. En este tipo de muestras esta diferencia de porcentaje también resultó ser significativa ($p < 0,001$). Si se tienen en cuenta todas las muestras de monitorización en las que se registró correctamente la procedencia, en las procedentes de la rama arterial, positivizaron 120 de un total registradas de 680, lo que supone un 17,6% de positividad. En la rama venosa, positivizaron 85 muestras de las 798 recogidas, suponiendo un 10,7% de positividad. La diferencia de estos porcentajes entre ambas ramas del CVCT, también resultó significativa ($p < 0,001$). En la figura 11 se muestra un esquema de las muestras recogidas y sus porcentajes de positividad.

RESULTADOS

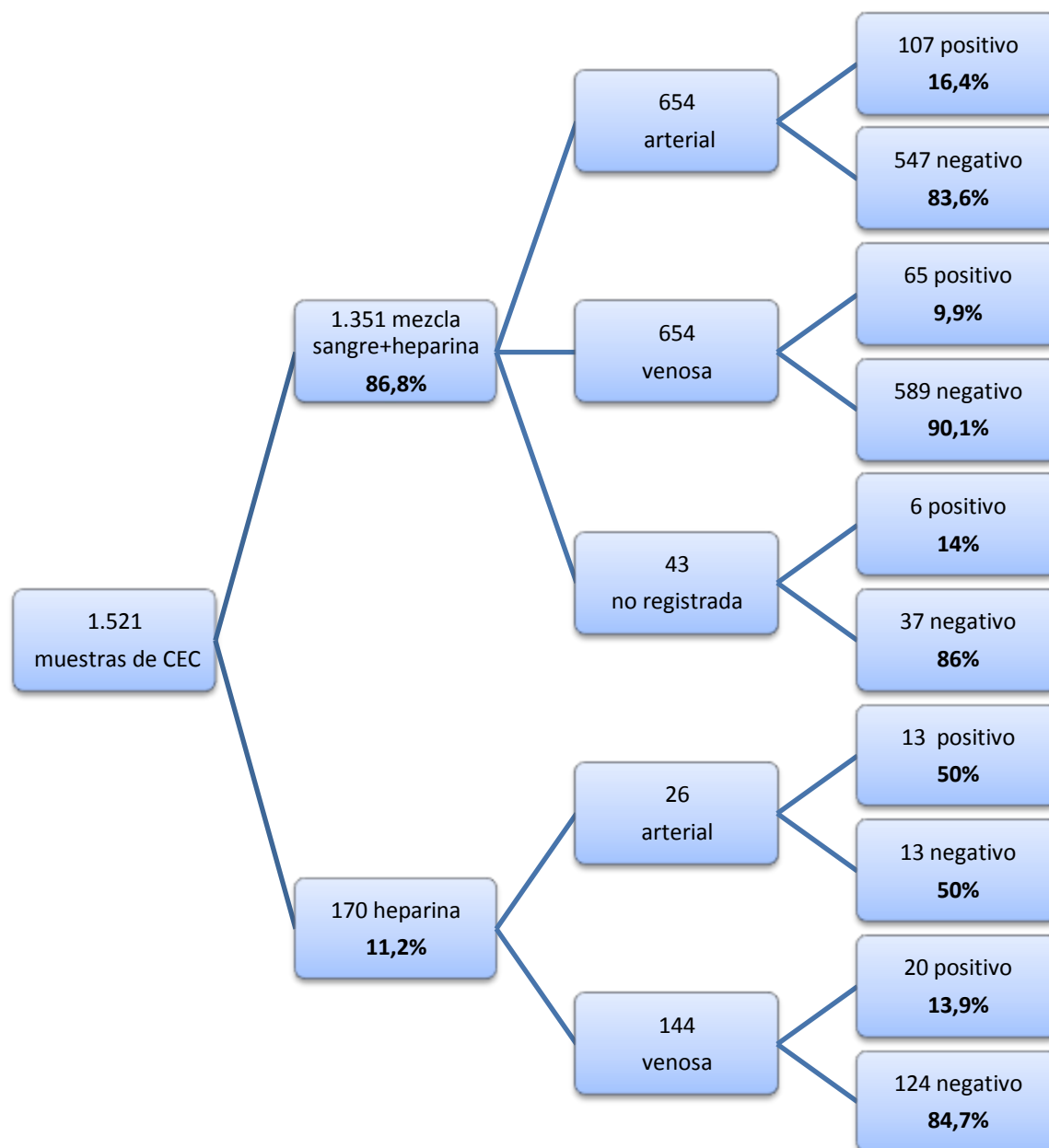


Figura 11. Esquema del número de muestras de monitorización de la CEC recogidas durante el estudio, su naturaleza, procedencia y porcentajes de positividad.

Los ECN aislados en las muestras de vigilancia de CEC, todos ellos identificados como *S. epidermidis*, fueron los microorganismos más frecuentemente aislados y fueron recuperados de 177 muestras: 107 de ellas provenientes de 10 pacientes que sufrieron 14 episodios de BRC, 54 de 36 pacientes pertenecientes al grupo de las No-BRC y las 16 restantes fueron aisladas en un paciente al que se le retiró

RESULTADOS

el CVCT por disfunción y no se pudo comprobar situación de BRC o no antes de la retirada, por lo tanto no fueron incluidas en el análisis posterior. Por lo tanto, se aisló *S. epidermidis* en un 11,6% del total de las muestras cultivadas. Respecto del total de muestras positivas, 211, *S. epidermidis* se aisló en un 83,9%.

Además hubo 34 muestras positivas con aislamientos de microorganismos diferentes a *S. epidermidis*. En total se produjeron 7 episodios en 4 pacientes (grupo de las BRC mixtas y causadas por microorganismos diferentes a *S. epidermidis*). Estos microorganismos fueron identificados como *S. maltophilia*, *Corynebacterium* spp., *E. coli* y *E. faecalis*. El porcentaje sobre el total de muestras recogidas, 1.521, que suponen estos aislamientos, fue del 2,2%, y sobre el total de muestras positivas, 211, fue del 16,1%.

De las 178 botellas que positivizaron, 152 (85,4%), pertenecían a aislados de ECN, *S. epidermidis* todos ellos y 26 (14,6%) a aislados diferentes a ECN y/o polimicrobianas. De las 33 muestras de heparina que positivizaron, en 25 (75,8%) se aisló *S. epidermidis* en solitario y las 8 (24,2%) restantes, microorganismos diferentes a *S. epidermidis*. El esquema de las muestras recogidas y la etiología de los cultivos positivos, viene reflejado en la figura 12.

RESULTADOS

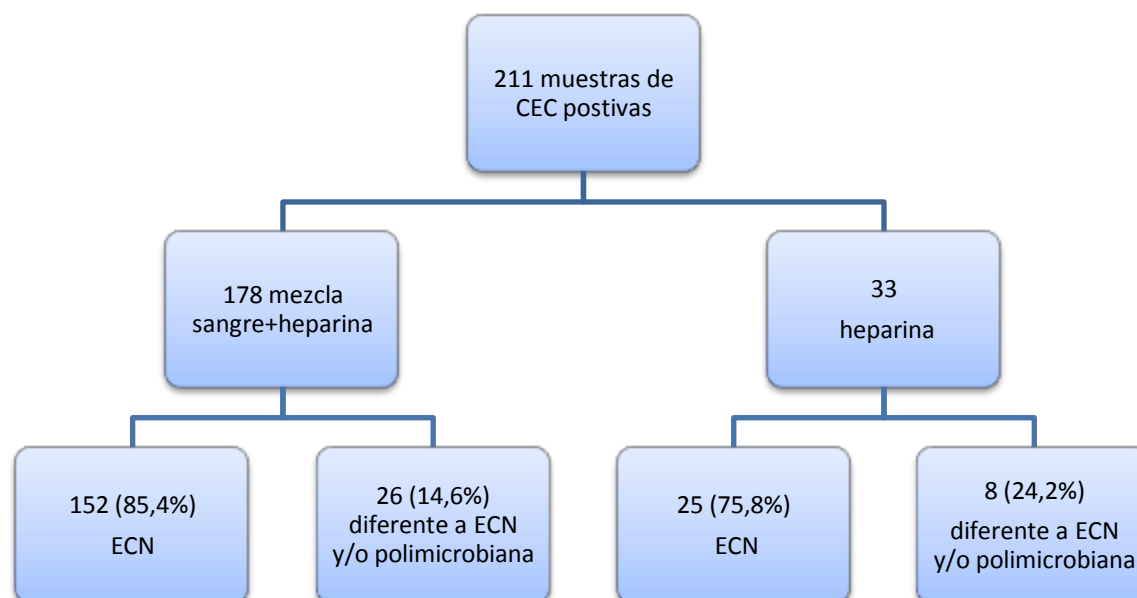


Figura 12. Etiología de los microorganismos aislados en las muestras de vigilancia de la CEC y porcentaje de positividad.

4.3.2. RELACIÓN DE LA COLONIZACIÓN ENDOLUMINAL DEL CATÉTER Y BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER

De los 64 CVCt monitorizados correspondientes a 51 pacientes que participaron en el estudio, en 46 (71,9%) catéteres hubo en alguna ocasión resultados positivos en los cultivos de las muestras de vigilancia de CEC, y, se colonizaron significativamente (en el caso de ECN o microorganismo poco patógeno se consideró colonización significativa si se registraban dos muestras positivas con misma identificación y antibiograma, aisladas en el periodo de un mes; para el resto de microorganismos era suficiente un solo cultivo positivo) 16 (25%) CVCt. Los 16 CVCt colonizados significativamente correspondían a 16 pacientes. De ellos, 14 pacientes desarrollaron posteriormente BRC, y los 2 pacientes restantes no lo hicieron. Teniendo en cuenta estos datos se realizó la comparación respecto al porcentaje de colonización

RESULTADOS

significativa en ambos grupos. En el grupo de 14 pacientes que desarrolló BRC, en todos ellos (100%) se detectó previamente al desarrollo de dicha infección, colonización endoluminal significativa. De los 37 pacientes que no lo hicieron, se detectó en 2 casos (5,4%). La diferencia entre ambos grupos fue significativa ($p < 0,001$). Los 14 pacientes que desarrollaron al menos un episodio de BRC, portaron un total de 20 CVCT durante el estudio, de los cuales 14 (70%), se colonizaron. El grupo de pacientes que no desarrolló BRC, portó un total de 44 CVCT, de los cuales 2 (4,5%) se colonizaron. Como se ha señalado, en los 2 CVCT pertenecientes al grupo de las No-BRC, en ambos casos se aisló en 2 ocasiones *S. epidermidis*, pero esta colonización no evolucionó y no se volvieron a detectar cultivos positivos en las siguientes muestras de vigilancia de la CEC tomadas a través del CVCT. Sin embargo, en el grupo de pacientes que desarrolló BRC, la evolución de las muestras fue muy diferente, éstas siguieron registrándose positivas, la colonización fue persistente en el tiempo y evolucionó hasta desarrollar BRC.

En 3 pacientes de los pertenecientes al grupo de pacientes que desarrollaron BRC, sobre 3 CVCT, la colonización recurrió sobre dicho catéter, una vez tratado éste con éxito (demostrado mediante HC estériles). Un CVCT sufrió 2 episodios y 2 CVCT sufrieron 3 episodios de CEC. En todos los casos ésta CEC evolucionó a BRC. Por lo tanto en 3 CVCT se registró recurrencia.

Es importante señalar, que todos los episodios de BRC que se desarrollaron durante el estudio de monitorización, fueron precedidos por la detección de positividad en los cultivos de vigilancia de la CEC. Respecto a la etiología de los microorganismos aislados en las muestras de monitorización y los aislados posteriormente en las muestras de BRC, cabe decir que en todos los casos se detectó el mismo microorganismo que el aislado en los HC posteriormente. Es decir, en todos los episodios, el microorganismo

RESULTADOS

aislado en los HC tomados para diagnóstico de BRC, se había aislado previamente en las muestras de monitorización de colonización endoluminal, presentando la misma identificación y mismo patrón de sensibilidad antibiótica.

4.3.3. TIEMPO TRANSCURRIDO DESDE LA INSERCIÓN DEL CATÉTER VENOSO CENTRAL HASTA LA DETECCIÓN DE COLONIZACIÓN Y DESARROLLO DE BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER

Un aspecto importante de este estudio era conocer la dinámica de colonización endoluminal de los CVCt utilizados en HD, del momento en el que éstos comenzaban a presentar cultivos positivos en la luz del catéter, se colonizaban significativamente y/o desarrollaban BRC desde su inserción. Este dato podría aportar información muy útil en el manejo de estos pacientes.

Para ello, en primer lugar se analizó en todos los catéteres monitorizados, el tiempo transcurrido desde la inserción del catéter hasta la obtención de la primera muestra de vigilancia que positivizó, es decir, hasta la detección de colonización. También se halló el tiempo transcurrido desde la inserción hasta la detección colonización significativa.

En segundo lugar, en los pacientes que desarrollaron BRC (14 pacientes), se estudiaron además de los tiempos mencionados en el párrafo anterior, los tiempos transcurridos desde la inserción del CVCt hasta el desarrollo del primer episodio de BRC en dicho catéter. También se determinó en este grupo de pacientes, el tiempo transcurrido desde que se detectaba la colonización significativa del CVCt hasta el desarrollo de BRC. En el análisis realizado en este apartado únicamente se ha tenido en cuenta el primer episodio de cada catéter, ya que en los sucesivos episodios existen

RESULTADOS

variables que no se pueden calcular, al haber sufrido el catéter tratamientos antibióticos y alterarse por lo tanto la dinámica natural de CEC.

Tanto en el grupo que desarrolló BRC como en el que no hizo, en algún momento en la vida útil de algunos CVCT, se detectaron muestras positivas, es decir, colonización, en los cultivos de la luz de dichos catéteres. Esta fecha quedó registrada y se pudo comparar el tiempo que llevaba insertado el CVCT en el grupo de catéteres que desarrolló BRC en contraposición con el grupo que no lo hizo, así como el tiempo que llevaban siendo monitorizados dichos catéteres. De los 50 CVCT que no desarrollaron BRC, en 32 CVCT (64%) se obtuvieron muestras positivas en los cultivos realizados de la luz del catéter. Cabe aclarar que algunos CVCT pertenecían a pacientes que en otro catéter insertado durante el estudio, bien anterior o posterior a éste, desarrollaron BRC, por lo tanto, por ello se habla de CVCT que desarrollaron o no BRC y no de pacientes, puesto que algunos pacientes portaron más de un CVCT durante el estudio.

En total, en 32 (50%) CVCT, de los 64 monitorizados durante el estudio, se detectó en ellos colonización, sin que posteriormente durante dicho estudio se detectara en ellos BRC. Desde la inserción hasta la detección de colonización en estos 32 CVCT transcurrieron una media de 251,6 días (DE: 196,7).

En los 14 CVCT que desarrollaron BRC, el tiempo transcurrido desde la inserción del CVCT hasta el registro de colonización fue de 365,6 días de media (DE: 374,5), es decir, un año. No hubo diferencia significativa en este aspecto ni tampoco en cuanto a los días que llevaban siendo monitorizados los CVCT en ambos grupos de catéteres (Tabla 12).

RESULTADOS

Tabla 12. Tiempos transcurridos desde la inserción del CVCt hasta la detección de colonización y días de monitorización del CVCt

Tiempo (Días)	CVCT que desarrollaron BRC N=14	CVCT que No desarrollaron BRC N=32	P
TP Ins-col			
Media (DE)	365,6 (374,5)	251,6 (196,7)	0,186
Mediana (P ₂₅ -P ₇₅)	230,0 (19,0-1.175,0)	222,5 (1,0-890,0)	
Días monitorización del CVCT			
Media (DE)	131,9 (99,2)	102,2 (108,6)	0,385
Mediana (P ₂₅ -P ₇₅)	141,0 (37,0-183,0)	56,0 (9,5-386)	

TP Ins-col: tiempo transcurrido desde la inserción del CVCt hasta la detección de colonización.

En 16 CVCt se detectó colonización significativa. Existen dos grupos bien diferenciados. Un grupo constituido por 14 pacientes, que desarrolló posteriormente BRC y otro, constituido por 2 pacientes que no lo hicieron (pertenecientes al grupo de 37 pacientes No-BRC). Por lo tanto, en total se colonizaron significativamente 16 (25%) CVCt (pertenecientes a 16 pacientes), de los 64 monitorizados, con una media de días desde la inserción de 377,9 días (DE: 365,4) y una mediana de 295,0 días (P₂₅-P₇₅: 127,0- 504,5). Los datos de la comparación obtenida entre ambos grupos se muestran en la tabla 13, donde se observa que tampoco hubo diferencias significativas en cuanto al tiempo en el que se desarrolló dicha colonización respecto de la longevidad del CVCt.

RESULTADOS

Tabla 13. Tiempos transcurridos desde la inserción del CVCT hasta la detección de colonización significativa en el CVCT

Tiempo (Días)	Pacientes que desarrollaron BRC N=14	Pacientes que No desarrollaron BRC N=37	P
Número de pacientes	14/14	2/37	
TP Ins-col significativa			
Media (DE)	390,9 (388,8)	286,5 (135,1)	0,719
Mediana (P ₂₅ -P ₇₅)	301,0 (114,0-527,0)	286,50 (191,0-382,0)	

TP Ins-col significativa: tiempo transcurrido desde la inserción del CVCT hasta la detección de colonización significativa.

En el grupo de pacientes que desarrolló BRC se calculó el tiempo medio transcurrido desde la inserción del CVCT hasta el desarrollo de BRC. Este tiempo fue de 442,8 días (DE: 378,9), es decir, 1,2 años desde la inserción de dicho catéter. Con el objetivo de aumentar la información sobre la dinámica de colonización y calcular el tiempo que permanece el CVCT colonizado hasta el desarrollo de BRC, se calculó el tiempo que transcurría desde la detección de colonización hasta desarrollo de BRC, resultando una media de 51,9 días (DE: 53,6) como se muestra en la tabla 14. Este punto se ha desarrollado más ampliamente en el apartado 4.3.4.

RESULTADOS

Tabla 14. Tiempos transcurridos desde la inserción del CVCT hasta la detección colonización, colonización significativa y desarrollo de BRC, y desde detección de colonización significativa hasta desarrollo de BRC.

Tiempos (Días)	Pacientes que desarrollaron BRC
	N=14
TP Ins-col	
Media (DE)	365,6 (374,5)
Mediana (P ₂₅ -P ₇₅)	230,0 (85,2-511,0)
TP Ins-col significativa	
Media (DE)	390,9 (388,8)
Mediana (P ₂₅ -P ₇₅)	301,0 (114,00-527,0)
TP Ins-BRC	
Media (DE)	442,8 (378,9)
Mediana (P ₂₅ -P ₇₅)	356,0 (179,0-577,0)
TP Col significativa-BRC	
Media (DE)	51,9 (53,6)
Mediana (P ₂₅ -P ₇₅)	31,5 (9,0-79,0)

TP Ins-col: tiempo transcurrido desde la inserción del CVCT hasta la detección de colonización; TP Ins-col significativa: tiempo transcurrido desde la inserción del CVCT hasta la detección de colonización significativa. TP Ins-BRC: tiempo transcurrido desde la inserción del CVCT hasta el desarrollo de BRC; TP Col significativa-BRC: tiempo transcurrido desde la detección de colonización significativa hasta el desarrollo de BRC.

RESULTADOS

4.3.3.1. TIEMPO TRANSCURRIDO DESDE LA INSERCIÓN DEL CATÉTER VENOSO CENTRAL HASTA LA DETECCIÓN DE COLONIZACIÓN Y DESARROLLO DE BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER EN *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*

Staphylococcus epidermidis fue el microorganismo más frecuentemente implicado en el desarrollo de BRC en el estudio. Con la intención de ampliar información sobre la dinámica de colonización de este microorganismo, se realizó el análisis de los tiempos transcurridos desde la inserción del CVCT hasta la detección de colonización, colonización significativa y BRC, así como el transcurrido desde la detección de colonización significativa hasta BRC. Los resultados vienen expresados en la tabla 15. Si se comparan los tiempos transcurridos desde la inserción hasta la detección de colonización ($p=0,227$) y colonización significativa ($p=0,241$) entre los grupos control (No-BRC) y BRC a causa de *S. epidermidis*, no se encuentran tampoco diferencias significativas desde la inserción del CVCT, en el cálculo de estas variables.

RESULTADOS

Tabla 15. Tiempos transcurridos desde la inserción del CVCt hasta la detección de colonización, colonización significativa y desarrollo de la BRC, y desde detección de colonización significativa hasta desarrollo de BRC por *S. epidermidis*.

Tiempos (Días)	PACIENTES BRC POR <i>S. epidermidis</i> N=10
Colonización previa	10/10
TP Ins-col	
Media (DE)	479,0 (388,0)
Mediana (P ₂₅ -P ₇₅)	438,0 (147,0-538,0)
TP Ins-col significativa	
Media (DE)	496,9 (381,1)
Mediana (P ₂₅ -P ₇₅)	447,5 (140,0-542,0)
TP Inserción-BRC	
Media (DE)	565,9 (381,8)
Mediana (P ₂₅ -P ₇₅)	501,0 (313,0-590,0)
TP Col significativa-BRC	
Media (DE)	69,0 (54,5)
Mediana (P ₂₅ -P ₇₅)	50,0 (28,0-105,0)

4.3.4. TIEMPO TRANSCURRIDO DESDE LA DETECCIÓN DE COLONIZACIÓN HASTA EL DESARROLLO DE BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER

Con la finalidad de averiguar cómo evoluciona la CEC y el número de días que permanece el catéter colonizado hasta el desarrollo de BRC, se estudiaron los parámetros registrados y se realizó el cálculo de dicha variable.

Como se muestra en la tabla 14 del apartado 4.3.3., teniendo en cuenta los datos del primer episodio de BRC de cada CVCt (14 CVCt de 14 pacientes), desde que se detectó dicha CEC hasta el desarrollo de BRC transcurrieron una media de 51,9 días. La mediana fue de 31,5 días. En este cálculo, sólo se tuvo en cuenta el primer episodio en

RESULTADOS

cada paciente, pero esta variable puede ser calculada en todos los episodios, pudiendo ampliar así información y potencia estadística.

El tiempo transcurrido desde la inserción del CVCT hasta el desarrollo de colonización o hasta el desarrollo de BRC, no se puede calcular en los 21 episodios, puesto que el CVCT en los segundos o consiguientes episodios, ya ha sufrido previamente episodio de colonización, BRC y tratamientos antibióticos y no sería real el cálculo, no reflejaría la dinámica de colonización natural, el dato estaría alterado.

Sin embargo, sí se puede calcular el tiempo transcurrido desde la detección de colonización significativa hasta el desarrollo de BRC en todos los episodios, en los 21 que se desarrollaron. Por lo tanto, si tenemos en cuenta los 21 episodios, la media de días transcurridos desde que se detectó la colonización significativa hasta que se desarrolló la BRC, fue 40,7 (DE: 47,1), con una mediana de 28 días (P₂₅-P₇₅: 5,0-45,0). Hay que señalar que en todos los casos, se demostró curación del episodio de BRC mediante la toma de HC a través de ambas ramas del CVCT y de vía periférica.

En el caso de las BRC causadas por *S. epidermidis*, éstos estuvieron implicados en 16 episodios. En 14 ocasiones en solitario fueron los causantes del episodio de BRC y en 2 ocasiones más, participaron en el episodio, encontrándose en las muestras de CEC y en los HC. Si se realizan los cálculos diferenciando las fechas en las que se aisló *S. epidermidis* de la fecha en la que se aisló el otro microorganismo que participó también en el mismo episodio de BRC, se puede calcular el tiempo entre la colonización y la BRC para *S. epidermidis*. El tiempo medio transcurrido desde la detección de colonización hasta desarrollo de BRC para *S. epidermidis* fue de 53,2 (DE: 47,6) días, con una mediana de 31,5 (P₂₅-P₇₅: 26,0-71,0) días.

Para el grupo que incluye las BRC polimicrobianas o las BRC causadas por un microorganismo diferente a ECN (7 episodios), y teniendo en cuenta sólo los tiempos

RESULTADOS

correspondientes a estos microorganismos, la media de tiempo entre ambas fechas fue 6 días (DE: 7,9) y mediana de 2,0 días (P_{25} - P_{75} : 2,0-9,0). La diferencia entre ambos grupos fue estadísticamente significativa ($p=0,032$).

4.3.5. TIEMPO DE POSITIVIDAD DE LAS MUESTRAS DE COLONIZACIÓN ENDOLUMINAL

El tiempo que transcurrió hasta la positivización de las muestras de vigilancia de la CEC introducidas en las botellas aerobias convencionales de HC (BacT/ALERT[®]), se analizó con el objetivo de determinar si este tiempo podía aportar información adicional y ser de ayuda en la predicción de la BRC.

Se diferenciaron para el análisis las muestras de monitorización de la CEC en tres grupos: el primero incluyó aquellas muestras en las que se aisló *S. epidermidis*, que posteriormente desarrollaron episodios de BRC por *S. epidermidis* exclusivamente, el segundo grupo, las muestras pertenecientes al grupo que desarrolló episodios de BRC por microorganismo distinto a *S. epidermidis* y el tercer grupo, incluyó las muestras donde se detectó positividad en los cultivos de vigilancia de la CEC, pero en aquellos pacientes que no desarrollaron BRC. En este último grupo, todas las muestras positivizaron con aislamiento de *S. epidermidis*.

Para el análisis de los tiempos de positividad en el primer grupo (BRC causada exclusivamente por *S. epidermidis*), sólo se tuvieron en cuenta aquellas muestras que ya se encontraban dentro de la definición de colonización significativa. La media del tiempo de positividad de los cultivos endoluminales de las botellas cultivadas fue de 14,7 horas (DE: 5,9), con una mediana de 14,5 horas: (P_{25} - P_{75} : 11,0-20,8), para las BRC causadas por *S. epidermidis*. Los resultados se reflejan en la tabla 16.

RESULTADOS

Para las BRC polimicrobianas o BRC causadas por microorganismos diferentes a ECN la media fue de 9,5 horas (DE: 5,2), y la mediana de 9,7 (P₂₅-P₇₅: 6,0-12,6).

Por último, el grupo de las muestras de vigilancia de la CEC, con cultivo positivo para *S. epidermidis*, perteneciente al grupo de las No-BRC, obtuvo un resultado en horas de media de 28,9 (DE: 12,2), y una mediana de 26,1 (P₂₅-P₇₅: 20,5-37,3) horas.

Tabla 16. Tiempo de crecimiento de las muestras de colonización endoluminal.

Tiempo de positividad en horas	TIPO DE EPISODIO		
	BRC causado por ECN	BRC polimicrobiana o microorganismo diferente a ECN	NO BRC
	N=59 botellas	N=26 botellas	N=54 botellas
Media (DE)	14,7 (5,9)	9,5 (5,2)	28,9 (12,2)
IC 95%:	(13,1-16,2)	(7,4-11,7)	(25,5-32,4)
Mediana (P₂₅-P₇₅)	14,5 (11,0-20,8)	9,7 (6,0-12,7)	26,1 (20,8-37,1)
Mínimo	6,7	2,0	13,4
Máximo	33	25,6	77,0

IC 95%: Intervalo de 95% de confianza

El primer y tercer grupo, en los que se encuentran implicados sólo ECN (*S. epidermidis*), acusan un crecimiento más lento que el segundo grupo, en el que se encuentran implicados microorganismos diferentes de ECN.

El primer grupo, en el que se encuentran recogidos los tiempos de positividad una vez diagnosticada la colonización significativa, registra tiempos más reducidos que el grupo que no dio lugar a BRC, siendo también ECN los microorganismos aislados.

La diferencia en el tiempo de crecimiento de las botellas de las muestras de vigilancia de la CEC es estadísticamente significativa si comparamos los grupos que dieron lugar a BRC, tanto la BRC causada exclusivamente por ECN, como BRC causada por otro microorganismo o polimicrobiana, respecto de las muestras halladas en

RESULTADOS

los cultivos de CEC que no dieron lugar a BRC ($p<0,001$ en ambos casos). La diferencia en el tiempo de crecimiento entre el grupo que desarrolló BRC por ECN y el que no desarrolló BRC, fue de 14,2 horas, y, entre el grupo que no desarrolló BRC y el que desarrolló de BRC polimicrobianas y/o diferentes a ECN fue de 19,3 horas.

La diferencia de tiempo entre el grupo de BRC por ECN y el grupo de BRC por otro microorganismo o polimicrobiana fue de 5,13 horas de media, siendo la significación estadística de 0,044 entre estos grupos. Los ECN acusan un crecimiento más lento que los demás microorganismos implicados, entre los que se encuentran BGN, bacilos gram positivos y cocos gram positivos diferentes de ECN.

4.3.6. RELACIÓN ENTRE EL TIEMPO DE PERMANENCIA DEL CATÉTER CON LA PROPORCIÓN DE MUESTRAS POSITIVAS Y EL TIEMPO DE POSITIVIDAD

Con la finalidad de seguir obteniendo información sobre la dinámica de la colonización endoluminal del CVCT, se analizaron las muestras en función de la proporción de positividad en los grupos de BRC por *S. epidermidis* respecto del grupo No-BRC, así como los tiempos de crecimiento de las muestras según el tiempo de permanencia desde la inserción del CVCT.

La proporción de muestras positivas de vigilancia de la CEC, en el caso de los pacientes que desarrollaron BRC causada por *S. epidermidis* fue de 107 muestras positivas del total de 463 registradas, lo que corresponde con un 23,1 %, mientras que en el caso del grupo de las No-BRC, se obtuvo un 5,9% de positividad, 54 muestras positivas de un total de 920. Las muestras de vigilancia de la CEC fueron más frecuentemente positivas en el grupo de las BRC que en el grupo de las No-BRC. Esta diferencia fue estadísticamente significativa ($p<0,001$).

RESULTADOS

Se quiso determinar si la colonización del catéter aumentaba según se incrementaba el tiempo de permanencia del CVCT. Se analizó la proporción de muestras positivas de colonización según el periodo de permanencia del catéter, así como el tiempo de positividad de las muestras de vigilancia de la CEC. Ello se logró agrupando los datos en tres periodos de tiempo: en el primero se analizaron los datos recogidos de aquellos CVCT que llevaban insertados un periodo menor de 180 días, el segundo, entre 180 y 360 días, y el tercero más de 360 días. Se analizaron por lo tanto los datos obtenidos en estos tres periodos de tiempo y se compararon los resultados según si los pacientes desarrollaron o no finalmente BRC.

En ambos grupos, la proporción de muestras positivas, aumentó según aumentaba el tiempo de permanencia del CVCT. Además, en el grupo de las BRC causadas por *S. epidermidis*, la proporción de muestras con cultivos positivos de CEC se incrementó significativamente del segundo periodo (16,5%) al tercer periodo (29,6%) ($p=0,009$), pero no sucedió así en el grupo de las No-BRC ($p>0,05$).

La proporción de muestras positivas de monitorización de la CEC fue significativamente mayor para el grupo de BRC causada por *S. epidermidis* que en el grupo de las No-BRC en los tres periodos analizados (Figura 13). Las diferencias en los porcentajes de positividad fueron las que a continuación se citan. En el primer periodo (menor de 180 días de inserción del CVCT), se obtuvo un porcentaje de diferencia de positividad entre ambos grupos del 7,5%, en el segundo (entre 180 y 360 días) del 10,7% y en el tercero (mayor de 360 días) del 22,7%.

RESULTADOS

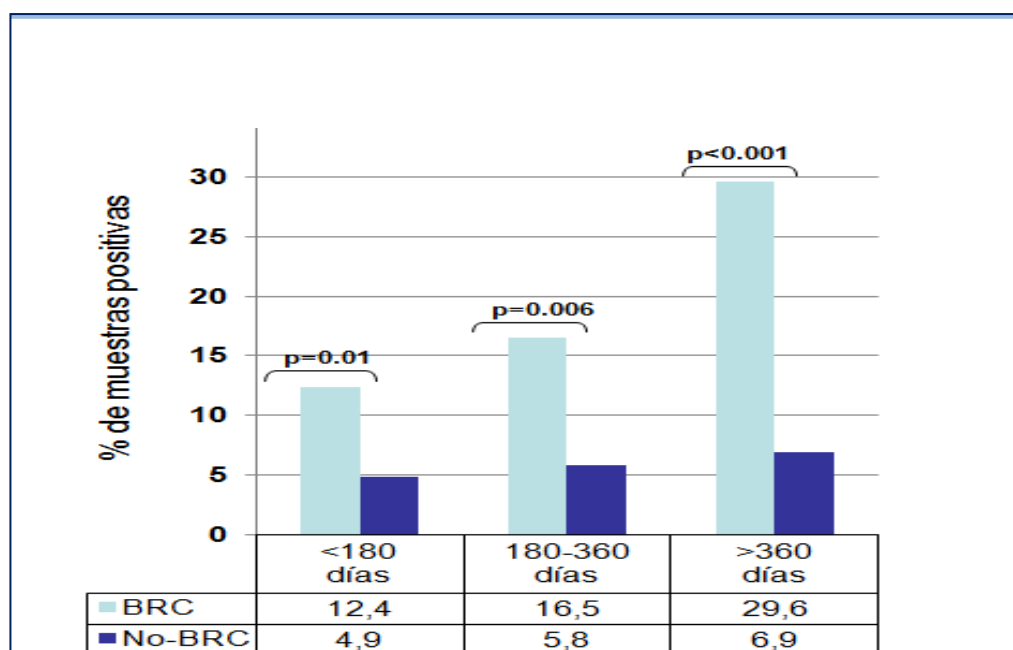


Figura 13. Proporción de muestras de vigilancia de la CEC positivas en el grupo BRC por *S. epidermidis* y No-BRC. Los datos vienen expresados en porcentaje, estratificados en tres periodos de permanencia del CVt (menor de 180 días, entre 180 y 360 días y mayor de 360 días).

En el estudio realizado sobre los tiempos de positividad de las botellas se obtuvieron los siguientes resultados. Los tiempos de positividad fueron menores en el último periodo (mayor de 360 días de inserción del CVt) que en el primer periodo (menor de 180) analizado respecto al tiempo de inserción del CVt. En el grupo de las No-BRC, los tiempos fueron disminuyendo de un periodo a otro según aumentaba el tiempo de permanencia del CVt, pero en el grupo de las BRC, el segundo periodo registró incluso menor tiempo de positividad que el tercero. En los tres periodos analizados, la mediana del tiempo de positividad de las muestras de monitorización de la CEC fue inferior en el grupo de las BRC causadas por *S. epidermidis* comparada con el grupo de las No-BRC. La diferencia de horas respecto de las medianas calculadas en los tres periodos fueron: en el primer periodo (menor de 180 días de inserción del CVt), la diferencia de horas entre el grupo de No-BRC y BRC fue de 8,2 horas, en el

RESULTADOS

segundo (entre 180 y 360 días) de 11,7 horas y el tercero (mayor de 360 días) de 7,3 horas. Esta diferencia de horas en el tiempo de positividad fue significativa tanto en el segundo como tercer periodo ($p<0,001$) (Figura 14).

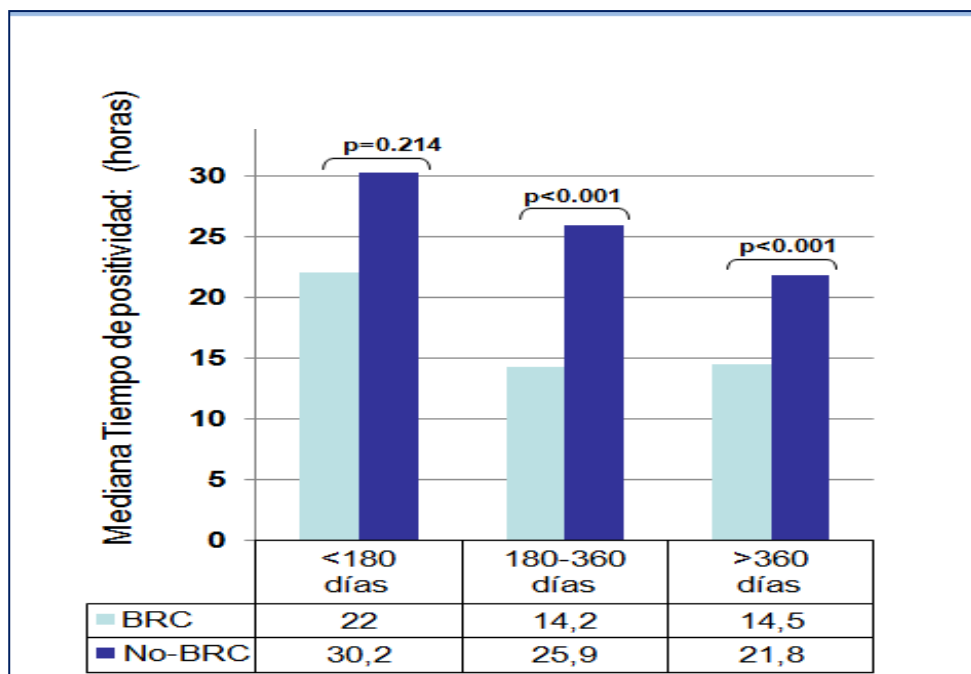


Figura 14. Tiempos de crecimiento de las muestras de vigilancia de la CEC en los grupos de BRC por *S. epidermidis* y No-BRC. Los datos están estratificados en tres periodos de permanencia del CVcT (menor de 180 días, entre 180 y 360 días y mayor de 360 días).

RESULTADOS

4.3.7. UTILIDAD DE LOS CULTIVOS DE LAS MUESTRAS DE COLONIZACIÓN ENDOLUMINAL DEL CATÉTER VENOSO CENTRAL PARA LA PREDICCIÓN DE BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER

Para valorar la validez de las muestras de colonización endoluminal del CVCT en la predicción del desarrollo de BRC, se analizaron las muestras de los 21 episodios de BRC y los 29 episodios de No-BRC. Los criterios de inclusión en el grupo de No-BRC eran, la ausencia de signos y síntomas de infección sistémica y local en el orificio de entrada del CVCT, y la esterilidad de los HC tanto en los provenientes de vía central como de la vía periférica. El resto de pacientes que pertenecían al grupo de los pacientes que no desarrollaron BRC, aunque no tuvieron signos ni síntomas de infección durante la duración del estudio, no se demostró la situación de No-BRC mediante dichos cultivos en ninguna fecha concreta, porque no se tomaron HC centrales ni periféricos, así que, no se tuvieron en cuenta estos pacientes en el análisis.

Se analizaron los resultados de las muestras de vigilancia de la CEC en los dos grupos de episodios (BRC y No-BRC), con la finalidad de determinar la utilidad de los diferentes tipos de cultivos en la predicción de BRC. Los resultados se registraron teniendo en cuenta como punto de referencia la fecha del episodio de BRC, en el grupo BRC o la fecha de realización de los HC con resultado negativo (cultivo estéril) en el grupo No-BRC. Se analizaron todos los resultados de las muestras de monitorización de la CEC extraídas en el mes anterior al desarrollo del episodio de BRC o al HC negativo en el grupo No-BRC. Se determinaron los valores de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo e índice de validez para las muestras que se citan a continuación.

RESULTADOS

Los resultados de la aportación de las diferentes muestras analizadas obtenidos figuran en la tabla 17. En este cálculo realizado se tuvieron en cuenta los 21 episodios de BRC, independientemente de la etiología de los mismos.

En primer lugar, se analizó el valor de al menos una muestra positiva, sin tener en cuenta su naturaleza o la procedencia de la rama del CVCt de donde era obtenida, mostrada en la primera fila de la tabla 17, donde se muestran los valores obtenidos considerando las muestras como test único (cualquier cultivo). La sensibilidad alcanzó el 95,2%, la especificidad el 86,2%, y los VPP y VPN el 83,3% y 96,2%, respectivamente.

Además, se diferenciaron para el análisis los cultivos de las muestras que provenían bien de la rama arterial o bien de la rama venosa, con el fin de averiguar si alguna de ellas aportaba mayor información que la otra. La sensibilidad y especificidad para los cultivos de la rama arterial fueron 84,2% y 96,3%, respectivamente, y para los cultivos de la rama venosa 90% y 96,3%, respectivamente. También se analizó la aportación de los cultivos simultáneos de ambas ramas positivas (cultivo simultáneo ramas arterial y venosa), y de dos cultivos positivos de muestras consecutivas.

Los cultivos de la solución de sellado de heparina mostraron una elevada sensibilidad (100%), y especificidad (100%). Aunque hay que incluir como limitación en estos resultados el hecho de que se dispuso de un número reducido de este tipo de muestras.

Tabla 17. Utilidad de los cultivos de las muestras de monitorización de la CEC en la predicción de BRC.

	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN	IV
Cualquier cultivo	95,2 (77,3-99,2)	86,2 (69,4-94,5)	83,3 (64,2-93,3)	96,2 (81,1-99,3)	90,0 (78,6-95,6)
Cultivo rama arterial	84,2 (62,4-94,5)	96,3 (81,7-99,3)	94,1 (73,0-99,0)	89,7 (73,6-96,4)	91,30 (79,7-96,6)
Cultivo rama venosa	90,0 (70,0-97,2)	96,3 (81,7-99,3)	94,7 (75,4-99,1)	92,9 (77,4-98,0)	93,6 (82,8-97,8)
Cultivo simultáneo ramas arterial y venosa	80,0 (58,4-92,0)	100,0 (88,0-100)	100 (80,6-100)	87,5 (71,9-95,0)	91,7 (80,4-96,2)
Cultivo de dos muestras consecutivas	85,0 (64,0-94,8)	100,0 (86,7-100)	100 (81,6-100)	89,3 (72,8-96,3)	93,33(82,1-97,7)
Cultivo de solución de sellado de heparina	100 (75,8-100)	100 (64,6-100)	100 (75,8-100)	100 (64,6-100)	100 (83,2-100)

Nota: Los resultados se expresan en términos de probabilidad condicional.

4.3.7.1. UTILIDAD DE LOS CULTIVOS DE LAS MUESTRAS DE VIGILANCIA DE LA COLONIZACIÓN ENDOLUMINAL EN LA PREDICCIÓN DE BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER POR *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*

Un análisis similar fue realizado sobre el grupo de pacientes que desarrolló BRC exclusivamente por *S. epidermidis*, para así determinar la utilidad de las muestras de vigilancia de la CEC en la predicción del desarrollo de BRC por este microorganismo (Tabla 18).

Cuando se tiene en cuenta la positividad del cultivo de al menos una muestra, sin tener en cuenta su naturaleza o procedencia, la sensibilidad alcanzaba el 100% y la especificidad el 86,2%. La sensibilidad y especificidad para los cultivos de la rama arterial fueron 100% y 96,3%, respectivamente, y para los cultivos de la rama venosa 92,3% y 96,3%, respectivamente. El cultivo positivo de dos muestras obtenidas consecutivamente en dos intervenciones diferentes, alcanzó una sensibilidad y especificidad del 100%.

Los cultivos de la solución de sellado con heparina mostraron una elevada sensibilidad (100%), y especificidad (100%). Aunque que hay que incluir también en este apartado como limitación en estos resultados, el hecho de que se dispuso de un número reducido de este tipo de muestras.

Tabla 18. Utilidad de los cultivos de las muestras de vigilancia de la CEC en la predicción de BRC causada por *S. epidermidis*

	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN	IV
Cualquier cultivo	100 (78,5-100)	86,2 (69,4-94,5)	77,8 (54,8-91,0)	100 (86,7-100)	90,7 (78,4-96,3)
Cultivo rama arterial	100 (75,8-100)	96,3 (81,7-99,3)	92,3 (66,7-98,6)	100,0 (87,1-100)	97,4 (86,8-99,5)
Cultivo rama venosa	92,3 (66,7-98,6)	96,3 (81,7-99,3)	92,3 (66,7-98,6)	96,3 (81,7-91,3)	95,0 (83,5 – 98,6)
Cultivo simultaneo ramas arterial y venosa	92,3 (66,7-98,6)	100 (88,0-100)	100 (75,8-100)	96,5 (82,8-99,4)	97,6 (87,4-99,6)
Cultivo de dos muestras consecutivas	100 (77,2-100)	100 (86,7-100)	100 (77,2-100)	100 (86,7-100)	100,0 (90,8-100)
Cultivo de solución de sellado de heparina	100 (64,6-100)	100 (64,6-100)	100 (64,6-100)	100 (64,6-100)	100,0 (78,5-100)

Nota: Los resultados se expresan en términos de probabilidad condicional.

4.3.8. UTILIDAD DEL TIEMPO DE POSITIVIDAD EN LA PREDICCIÓN DE BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER EN *S. STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*

El objetivo de este estudio complementario fue averiguar la utilidad del tiempo de crecimiento (tiempo de positividad), en los cultivos obtenidos a través de las ramas arterial y venosa para predecir BRC por *S. epidermidis*. Estos cultivos fueron monitorizados en un sistema automático de detección de crecimiento. En base a los resultados mostrados previamente, se tomó como punto de corte un tiempo de crecimiento ≤ 14 horas. El valor predictivo positivo fue del 96,1%. Los resultados se muestran en la Tabla 19.

Tabla 19. Utilidad del tiempo de positividad de las muestras de monitorización de la CEC para predecir BRC por *S. epidermidis*.

Tiempo de positividad	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
Tiempo ≤ 14 horas	52,1% (38,3–65,5)	97,7% (88,2–99,6),	96,1% (81,1–99,3)	65,1% (53,1–75,5)

4.4. ESTUDIO MICROBIOLÓGICO DE LAS CEPAS CAUSANTES DE BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER Y DE COLONIZACIÓN ENDOLUMINAL DEL CATÉTER

Con la finalidad de caracterizar las cepas aisladas de las muestras de monitorización de la CEC y de HC, en todos los aislamientos obtenidos se realizó identificación y estudio de la sensibilidad antimicrobiana. Para microorganismos

RESULTADOS

diferentes de ECN, se consideró que se trataba del mismo microorganismo si los aislados (tanto en las muestras de vigilancia de la CEC como las obtenidas en las muestras de HC) tenían idéntico patrón bioquímico y de sensibilidad antibiótica, sin necesidad de estudios moleculares.

En las BRC causadas por ECN, todos los aislamientos fueron identificados como *S. epidermidis*. Durante el periodo de estudio, 12 pacientes desarrollaron 16 episodios de BRC con participación de *S. epidermidis* (Tabla 9). En 14 episodios *S. epidermidis* fue el causante único de la BRC y en 2 episodios junto con otro microorganismo, en una ocasión junto con *E. faecalis* y en otra ocasión junto con *S. maltophilia* (paciente nº 3). Un paciente sufrió en un mismo CVCT cuatro episodios de BRC por *S. epidermidis* (paciente nº 10).

En total hubo 3 episodios de BRC polimicrobianos, 2 citados anteriormente (paciente nº 3), y el tercero que correspondió a una BRC causada por *E. coli* y *E. faecalis* (paciente nº 32). El patrón de sensibilidad de los microorganismos implicados en este episodio se cita continuación. *Escherichia coli* presentó sensibilidad frente a amoxicilina/ácido clavulánico, piperacilina/tazobactam, cefalotina, cefazolina, cefuroxima, cefoxitina, cefotaxima, cefepime, imipenem, meropenem, gentamicina, tobramicina, amikacina, ácido nalidíxico, fluoroquinolonas, trimetoprim/sulfametoxazol y nitrofurantoína. *Enterococcus faecalis* presentó sensibilidad frente a penicilina, ampicilina, levofloxacino, vancomicina, teicoplanina y linezolid.

El paciente número 3 presentó en total 4 episodios, 2 polimicrobianos citados anteriormente, y otros 2 monomicrobianos causados por *S. maltophilia* (Tabla 9). Es interesante resaltar la variación en el patrón de sensibilidad a los antimicrobianos de *S. maltophilia*. En el primer episodio el patrón de sensibilidad registrado fue el siguiente: sensibilidad frente a ceftazidima, levofloxacino, minociclina, y

RESULTADOS

trimetoprim/sulfametoxazol. En los posteriores episodios este microorganismo adquirió resistencia frente a trimetoprim/sulfametoxazol. Respecto al patrón de sensibilidad de *E. faecalis*, este microorganismo fue sensible a penicilina, ampicilina, vancomicina, teicoplanina, y linezolid. No se observó alta resistencia a la gentamicina y estreptomina.

Otro paciente desarrolló un episodio causado por *E. faecalis* (paciente nº 5). Su patrón de sensibilidad fue el siguiente: sensibilidad frente a penicilina, ampicilina, levofloxacino, vancomicina, teicoplanina, y linezolid. No se observó alta resistencia a la gentamicina, pero sí a estreptomina.

El episodio causado por *Corynebacterium* spp. (Paciente nº 41) presentó sensibilidad frente a penicilina, cefalotina, cefazolina, gentamicina, eritromicina, clindamicina, vancomicina y trimetoprim/sulfametoxazol.

4.4.1. ESTUDIO DE RESISTENCIA ANTIBIÓTICA EN LAS CEPAS DE *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*

Tanto en las muestras de monitorización de la colonización endoluminal como en las de hemocultivos, todos los aislamientos de *S. epidermidis* obtenidos fueron analizados microbiológica y genéticamente. Se identificaron a nivel de especie y se les realizó sensibilidad antibiótica, además de su caracterización genotípica mediante ECP.

En el grupo de pacientes que desarrolló BRC, en 12 pacientes, 16 episodios hubo implicación de *S. epidermidis*. Los resultados de los estudios de sensibilidad a los antimicrobianos mostraron que los aislamientos obtenidos de los hemocultivos de cada paciente presentaban idénticos resultados. Así que a la hora de determinar el patrón de

RESULTADOS

resistencia de los aislamientos de hemocultivos se consideró un aislamiento por cada paciente. Los resultados se muestran en la figura 15.

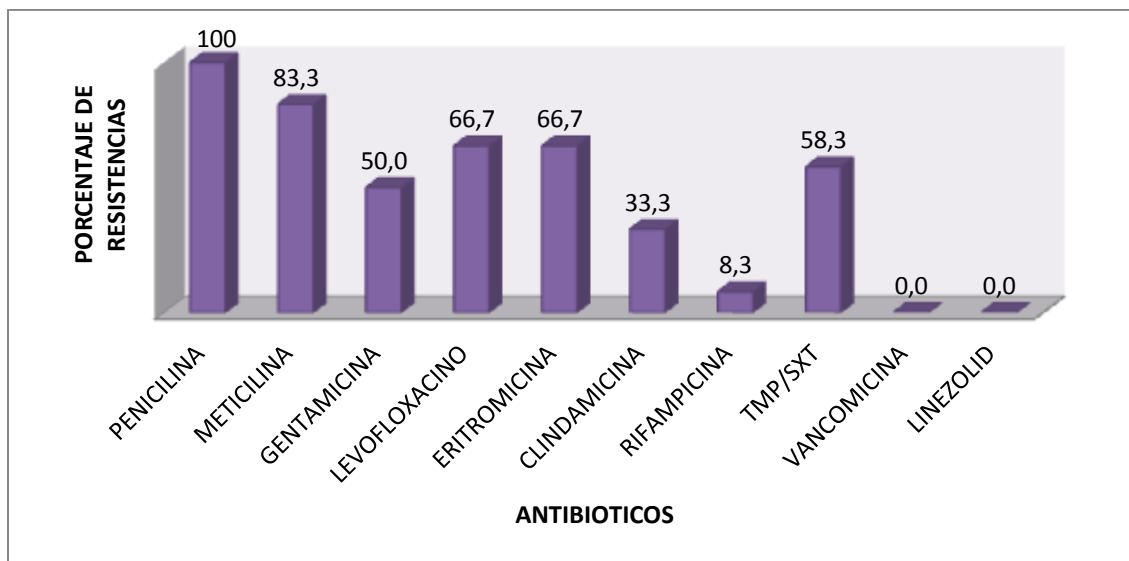


Figura 15. Porcentaje de resistencia de los aislamientos de *S. epidermidis* causantes de BRC.

Por otra parte, de las 107 cepas obtenidas de las muestras de vigilancia de la colonización del grupo de catéteres que no desarrolló BRC (32 CVCT en total), se realizó antibiograma en un total de 54 aislamientos de *S. epidermidis*. Estos aislamientos sólo se encontraron en las muestras de vigilancia extraídas a través de la luz del catéter y no dieron lugar a BRC. Los datos de sensibilidad antibiótica se muestran en la figura 16.

RESULTADOS

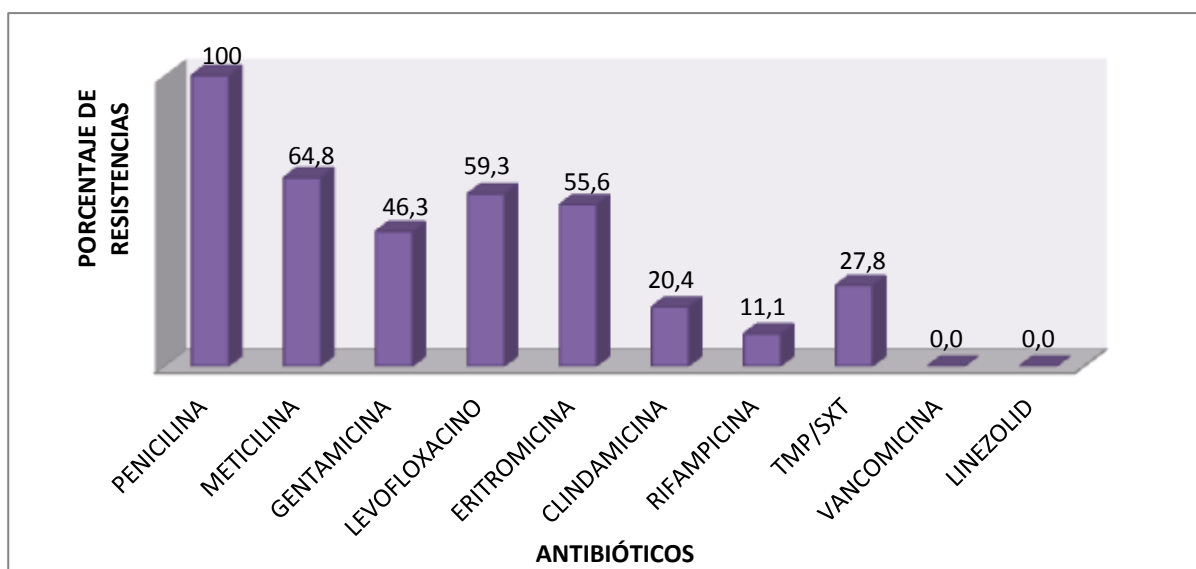


Figura 16. Porcentaje de resistencia de los aislamientos de *S. epidermidis* que no dieron lugar a BRC. Número de cepas analizadas: 54.

Además del estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos realizado en las cepas de *S. epidermidis* que desarrollaron colonización endoluminal y BRC, y las cepas que sólo desarrollaron colonización endoluminal del catéter, ambas denominadas cepas hospitalarias, se estudió también la sensibilidad antibiótica de 30 cepas de un grupo control de voluntarios sanos sin relación con el hospital (cepas comunitarias). Los datos y el análisis comparativo entre el grupo de cepas hospitalarias y comunitarias, así como la comparación entre las cepas hospitalarias, figuran en la tabla 20:

La resistencia a meticilina fue del 83,3% en los aislamientos hospitalarios que produjeron BRC, del 64,8% en el grupo de las cepas hospitalarias que no desarrollaron BRC, y del 3,3% en el grupo de las cepas comunitarias. No se encontró resistencia frente a vancomicina, teicoplanina, ni linezolid en ningún aislamiento.

No hubo diferencias significativas en el porcentaje de resistencia a los antimicrobianos entre los grupos que desarrollaron BRC y los que no desarrollaron BRC, ambos pertenecientes a las cepas aisladas en el medio hospitalario. Sin embargo,

RESULTADOS

sí hubo diferencia significativa cuando se comparó el porcentaje de resistencia de las cepas hospitalarias, tanto las que desarrollaron BRC como las que sólo desarrollaron colonización pero no BRC, con el porcentaje de resistencia hallado en las cepas comunitarias. Las cepas hospitalarias fueron más resistentes a meticilina, levofloxacino y gentamicina. Respecto a trimetoprim/sulfametoxazol, aunque las cepas hospitalarias fueron más resistentes que las comunitarias, únicamente se observó una clara significación estadística en comparación con el grupo de las cepas hospitalarias causantes de BRC. Respecto a la resistencia hallada en eritromicina, clindamicina y rifampicina, no hubo diferencia en la comparación entre el grupo de las cepas hospitalarias, ni tampoco en la comparación de éstas con el grupo de cepas comunitarias.

El 91,7% de los aislados pertenecientes al grupo de BRC y el 66,7% de los pertenecientes al grupo de No BRC fueron multirresistentes (definido como el hecho de presentar resistencia a tres o más familias de antimicrobianos). La diferencia en estos porcentajes no fue significativa ($p=0,085$). En el grupo de cepas de *S. epidermidis* aisladas en los voluntarios sanos el porcentaje de multirresistencia fue del 6,7%. La comparación con las cepas hospitalarias fue significativa en ambos grupos de cepas (Tabla 20).

En resumen, las cepas hospitalarias que dieron lugar a colonización endoluminal y BRC presentaron, en general, mayor resistencia antibiótica que las que sólo presentaron colonización endoluminal (sin desarrollar BRC), pero no hubo diferencia significativa entre ambos grupos de aislamientos. Sin embargo, sí hubo diferencia significativa entre las cepas hospitalarias y las comunitarias, presentando los aislamientos nosocomiales mayor resistencia a los antimicrobianos.

Tabla 20. Sensibilidad antibiótica de las cepas comunitarias y hospitalarias.

Antimicrobiano	CEPAS HOSPITALARIAS		CEPAS COMUNITARIAS	P	
	Cepas de <i>S. epidermidis</i> de pacientes que desarrollaron BRC N=12 (%)	Cepas de <i>S. epidermidis</i> de pacientes No-BRC N=54 (%)	Cepas de <i>S. epidermidis</i> grupo control N=30 (%)	BRC vs Control	NO BRC vs Control
Penicilina	12 (100)	54 (100)	30 (100)	-	-
Meticilina	10 (83,3)	35 (64,81)	1 (3,3)	<0,001	<0,001
Gentamicina	(6) 50)	25 (46,3)	2 (6,7)	<0,05	<0,001
Levofloxacino	8 (66,7)	32 (59,3)	1 (3,3)	<0,001	<0,001
Eritromicina	8 (66,7)	30 (55,6)	12 (40)	0,122	0,174
Clindamicina	4 (33,3)	11 (20,4)	6 (20)	0,433	0,967
Rifampicina	1 (8,3)	6 (11,1)	0	0,285	0,083
Trimetoprim/ sulfametoxazol	7 (58,3)	15 (27,78)	3 (10)	<0,05	0,06
Vancomicina	0	0	0	-	-
Linezolid	0	0	0	-	-
R ≥ 3 antibióticos	11 (91,7)	36 (66,7)	2 (6,7)	<0,001	<0,001

Nota: la comparación entre los grupos de BRC y No BRC no dio significación estadística en ningún caso.

4.5. EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR DE LOS AISLAMIENTOS DE *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS* CAUSANTES DE BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER Y DE COLONIZACIÓN ENDOLUMINAL DEL CATÉTER

Este estudio pretendía responder a dos cuestiones. La primera era conocer, puesto que el microorganismo que con más frecuencia causó BRC fue *S. epidermidis*, si las cepas aisladas en un paciente podían haberse transmitido a otro u otros pacientes. Con ello, se podría averiguar si había existido un clon persistente que se hubiera diseminado y causado dichos episodios. La segunda, fue determinar, si un paciente se colonizaba por una determinada cepa, y si ésta persistía en el tiempo colonizando el catéter, hasta desarrollar finalmente BRC.

Para el estudio de epidemiología molecular, a las cepas causantes de CEC y BRC se les realizó la técnica de ECP. Se analizaron 107 aislamientos de *S. epidermidis* causantes de CEC en 16 pacientes que posteriormente desarrollaron BRC con implicación de este microorganismo. Así mismo, se analizaron también los perfiles de restricción generados de las cepas aisladas en los hemocultivos tomados para diagnóstico de BRC en dichos pacientes.

El análisis comparativo de estos perfiles proporcionó 12 genotipos o patrones de ECP diferentes, que se identificaron con letras mayúsculas del alfabeto. Los genotipos de los distintos pacientes fueron diferentes unos de otros, considerándose por lo tanto como no relacionados. Este resultado indicaba la ausencia de transmisión cruzada de *S. epidermidis* entre los pacientes que se dializaban en las dos unidades de HD participantes en el estudio. En la figura 17 se muestra un dendograma con los pulsotipos de los aislamientos de *S. epidermidis* causantes de BRC.

RESULTADOS

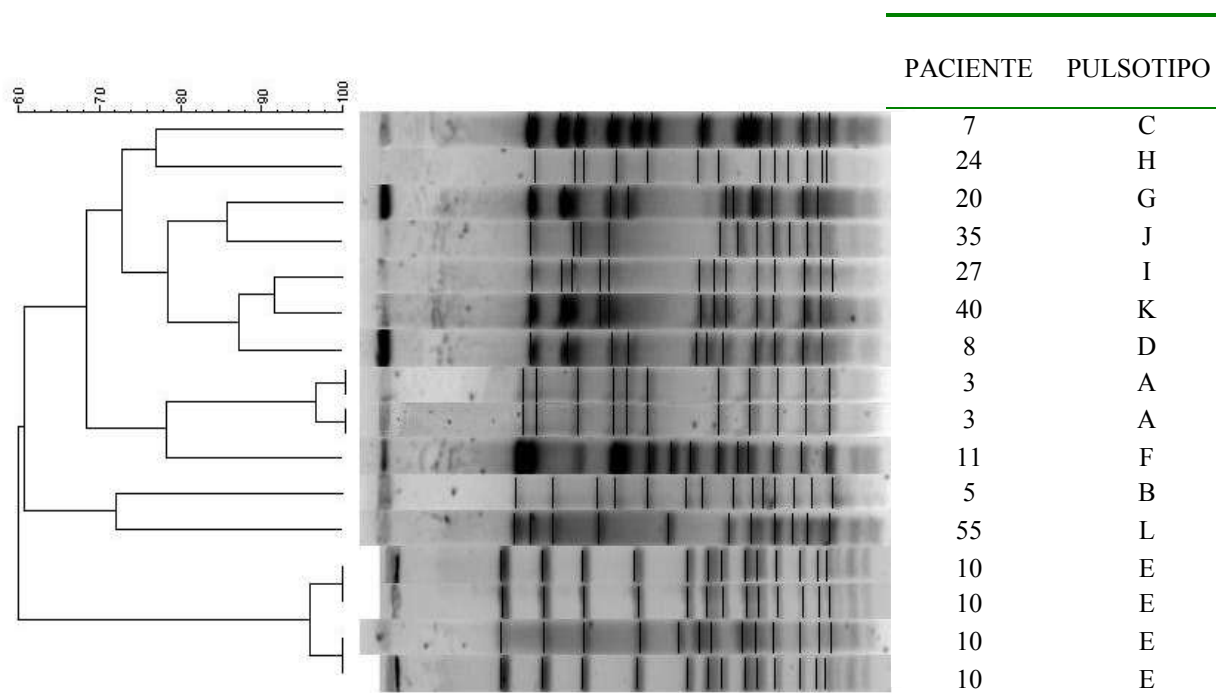


Figura 17. Patrón de ECP de los *S. epidermidis* involucrados en 16 episodios de BRC en 12 pacientes sometidos a HD. En la columna de la derecha se indica el paciente en el que se aisló el *S. epidermidis* analizado y el pulsotipo al que pertenece dicho aislamiento.

En el análisis molecular realizado para profundizar en el conocimiento de la dinámica de colonización endoluminal del catéter por *S. epidermidis*, se obtuvieron los siguientes resultados. Cada paciente presentó el mismo genotipo en todos los aislamientos analizados, tanto en los hallados en el periodo de colonización del catéter (aislados en las muestras de vigilancia de la colonización endoluminal del catéter), como en los hallados en las muestras de hemocultivos para diagnóstico de BRC. En todas las cepas que provenían de las muestras de vigilancia de la colonización endoluminal y las correspondientes a los HC, tanto de las muestras de sangre extraídas por vena periférica como las extraídas a través de ambas ramas del CVCT, el genotipo fue idéntico para el mismo paciente. Se demostró por lo tanto que los microorganismos responsables de la colonización endoluminal persistente del CVCT, y de la posterior

RESULTADOS

BRC presentaban idéntico genotipo. En la figura 18 se muestra un ejemplo de ECP donde se analizaron las cepas de *S. epidermidis* en las muestras de colonización endoluminal halladas durante el periodo de monitorización del CVCT y las cepas aisladas en las muestras de HC centrales y periféricas correspondientes a un episodio de BRC. Como se observa en la figura, los patrones genéticos fueron idénticos.

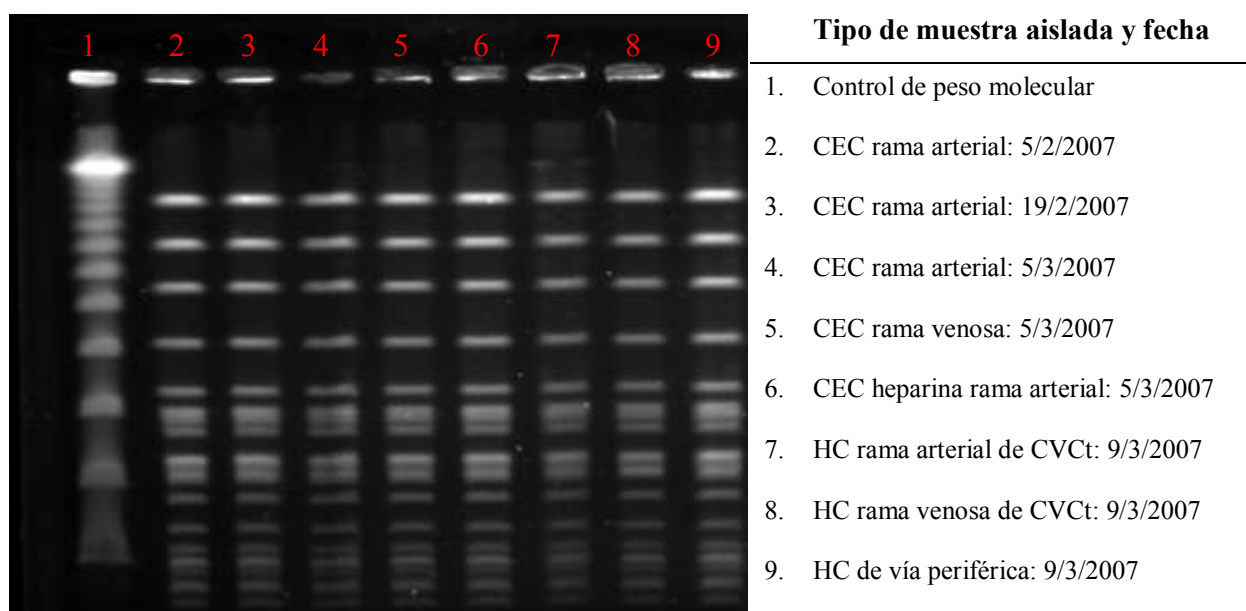


Figura 18. ECP de los aislamientos de *S. epidermidis* de las muestras de vigilancia de la CEC y HC aislados en un episodio de BRC de un paciente. En la columna de la derecha se asignan a cada número de la figura el tipo de muestra y la fecha en la que se aisló dicha muestra.

4.6. ESTUDIO DE FACTORES DE VIRULENCIA EN LAS CEPAS DE *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*

Staphylococcus epidermidis fue el microorganismo más frecuentemente implicado tanto en la colonización endoluminal de los CVCT, como en las BRC en los pacientes en HD. Durante nuestro estudio de la dinámica de la colonización endoluminal del catéter por *S. epidermidis* en los pacientes monitorizados, observamos que existían dos patrones de comportamiento diferente. En unos casos, un CVCT comenzaba a colonizarse por *S. epidermidis*, y éste persistía en el tiempo (recuperándose de los cultivos de vigilancia de la CEC) y evolucionando finalmente hasta el desarrollo de BRC (grupo BRC). En otros casos (grupo No-BRC), se recuperaron aislamientos de *S. epidermidis* de los cultivos de vigilancia de la CEC, pero no continuaron siendo positivos, por lo tanto, dándose una colonización transitoria, pero no significativa ni persistente. Por ello se estudió la posibilidad de que hubiera ciertos factores de virulencia que hicieran que unas cepas fueran capaces de colonizar el catéter y que esa colonización fuera persistente, evolucionara y finalmente desarrollara infección.

Se procedió a la búsqueda de las características fenotípicas y genotípicas citadas a continuación, con la finalidad de saber si éstas estaban más presentes en el grupo que desarrolló BRC y su presencia pudiera explicar esa mayor virulencia y/o invasividad:

- Detección del gen *icaA*
- Detección del gen *icaD*
- Detección del elemento de inserción IS256
- Detección fenotípica de producción de *biocapa* mediante el medio de cultivo Rojo Congo.

RESULTADOS

Por lo tanto se detectaron los genes *icaA*, *icaD*, la secuencia de inserción IS256 y la formación de *biocapa* en las cepas de *S. epidermidis* causantes de CEC y BRC, así como en los aislamientos de *S. epidermidis* hallados únicamente en las muestras de vigilancia de CEC provenientes de pacientes que no habían desarrollado BRC. Así mismo, con el objetivo de averiguar la distribución de estas características entre las cepas hospitalarias y comunitarias de *S. epidermidis*, y estudiar si había diferencia entre ellas, se analizaron las citadas variables en los aislamientos del grupo control de voluntarios sanos sin relación con el hospital (cepas comunitarias). Además se analizó la posible relación entre la posesión de estos genes y la capacidad de producción de *biocapa* con el aumento de resistencia antibiótica entre los aislamientos.

Tras el análisis realizado se hallaron los siguientes resultados. Al igual que ocurrió en el estudio de sensibilidad antibiótica y epidemiología molecular, en cada paciente que desarrolló BRC, todos los aislamientos de *S. epidermidis* poseían idéntico patrón respecto a la posesión de estos genes, por lo tanto para el estudio comparativo, se tuvo en cuenta un aislado de cada paciente, es decir 12 aislados en el grupo de pacientes que desarrolló BRC. En el análisis de la presencia de los genes *icaA*, *icaD*, y la secuencia IS256, aunque los porcentajes eran superiores en las cepas causantes de BRC que en las No-BRC, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas. Sin embargo, la presencia de la secuencia de inserción IS256 y los genes *icaA* e *icaD* fue más frecuente en los aislamientos hospitalarios (BRC y No BRC) que en los comunitarios, mostrando significación estadística ($p < 0,001$) (Tabla 21).

La producción fenotípica de *biocapa*, detectada mediante el medio Rojo Congo, tanto en las cepas hospitalarias como en las comunitarias, fue similar en los tres grupos, no mostrando diferencia en la comparación entre ninguno de ellos.

Tabla 21. Formación de *biocapa* mediante la detección en medio Rojo Congo y genes *icaA*, *icaD*, secuencia de inserción *IS256* en cepas hospitalarias y comunitarias.

	CEPAS HOSPITALARIAS		CEPAS COMUNITARIAS	P	
	Cepas de <i>S. epidermidis</i> de pacientes que desarrollaron BRC N=12 (%)	Cepas de <i>S. epidermidis</i> de pacientes No-BRC N=54 (%)	Cepas de <i>S. epidermidis</i> de grupo control N=30 (%)	BRC vs CONTROL	NO BRC vs CONTROL
<i>Biocapa</i>	6 (50)	32 (59,3)	14 (46,7)	0,847	0,269
<i>IS256</i>	11 (91,7)	42 (77,8)	9 (30,0)	<0,001	<0,001
<i>icaA</i>	10 (83,3)	38 (70,4)	2 (6,7)	<0,001	<0,001
<i>icaD</i>	11 (91,7)	38 (70,4)	7 (23,3)	<0,001	<0,001
<i>icaA</i> & <i>icaD</i>	10 (83,3)	34 (63,0)	2 (6,7)	<0,001	<0,001

Nota: la comparación entre los grupos de BRC y No BRC no dio significación estadística en ningún caso

RESULTADOS

Se investigó la posible relación entre la presencia de los genes *icaA*, *icaD*, la secuencia de inserción IS256 y la formación de *biocapa* con el aumento de la resistencia entre los aislados de *S. epidermidis*. El análisis comparativo de estas variables mostró que la presencia de los genes *icaA* e *icaD*, e IS256 era más frecuente en los aislamientos de *S. epidermidis* multirresistentes que en aquellos que no mostraban multirresistencia, $p < 0,001$ (Tabla 22). Sin embargo, la capacidad de producir *biocapa* fue similar en ambos grupos de aislamientos.

Tabla 22. Asociación entre la formación de *biocapa*, presencia de los genes *icaA*, *icaD*, secuencia de inserción IS256 y la multirresistencia.

	Multirresistencia N=49 (%)	No multirresistencia N=47	P
<i>Biocapa</i>	30 (61,2)	22 (46,8)	0,159
IS256	42 (77,6)	20 (42,6)	<0,001
<i>icaA</i>	38 (85,7)	12 (25,5)	<0,001
<i>icaD</i>	42 (71,4)	14 (29,8)	<0,001
<i>icaA</i> & <i>icaD</i>	35 (85,7)	11 (23,4)	<0,001

Además, se analizó la posible asociación entre presencia de los genes *icaA*, *icaD*, posesión de ambos genes (*icaA* e *icaD*), o la secuencia de inserción con la formación de *biocapa* mediante el medio Rojo Congo. El análisis realizado no mostró ninguna asociación significativa entre la presencia de estos elementos genéticos con la formación de la *biocapa* (Tabla 23).

RESULTADOS

Tabla 23. Asociación entre la producción de *biocapa* y la presencia de los genes *icaA*, *icaD* y secuencia de inserción IS256.

	<i>Biocapa</i> N=52 (%)	<i>Biocapa</i> N=44 (%)	P
<i>icaA</i>	24 (46,2)	26 (59,1)	0,209
<i>icaD</i>	27 (51,9)	29 (65,9)	0,168
<i>icaA</i> & <i>icaD</i>	22 (42,3)	24 (54,5)	0,234
IS256	30 (57,7)	32 (72,7)	0,126

DISCUSIÓN

5. DISCUSIÓN

El rápido incremento de la enfermedad renal en las últimas décadas, se ha visto acompañado de un aumento de los procesos dialíticos, lo cual se asocia también al aumento de la morbilidad y mortalidad en esta población. Aunque se pretende disminuir el uso de los catéteres centrales, ya que se acompañan de mayores complicaciones que las FAV e injertos, la realidad es que una proporción significativa de población de pacientes en HD realiza su terapia, a través de CVC, y un porcentaje aún más elevado comienza su TRS mediante los catéteres centrales [4, 20, 21, 23-25]. En EEUU, entre un 60% y un 70% de los pacientes que inician diálisis lo hacen a través de un catéter y un 31% lo hacen con un CVCt como acceso permanente [30]. El catéter permanente como acceso vascular definitivo para HD es cada vez más frecuente (30-40%) [31, 32]. En Europa la incidencia de los pacientes que inician la HD con un catéter oscila entre un 15 y 50% [26, 29]. La morbilidad y mortalidad, es más elevada en los pacientes que realizan la HD a través de CVC [26]. Si no existe otra alternativa y el paciente debe dializarse a través del CVC, todos los esfuerzos deben centrarse en evitar la retirada innecesaria de dicho catéter, evitando que se produzcan en él problemas de flujo, de trombosis y de infecciones, para dilatar en lo posible la vida útil del catéter. La BRC es el tipo de infección más importante y grave que puede producirse asociada al uso de catéteres. La principal fuente de BRC en los catéteres de larga duración, como es el caso de los pacientes en HD, es la colonización endoluminal [192-194], por lo tanto su conocimiento nos podría proporcionar herramientas para abordar con mayor probabilidad de éxito el tratamiento de dichas infecciones, e incluso anticiparse a su desarrollo.

El presente estudio pretendía conocer la dinámica de colonización de los CVCt de los pacientes en HD, para lo cual se realizó un seguimiento microbiológico de la

DISCUSIÓN

cohorte de pacientes que se dializaban en nuestra área de salud. El seguimiento de estos pacientes ha sido la base para desarrollar y proponer una estrategia de vigilancia microbiológica de los catéteres de estos pacientes, y así, poder evitar el desarrollo de BRC.

5.1. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN Y DE LOS CATÉTERES INCLUIDOS EN EL ESTUDIO

Entre las dificultades para la realización de este trabajo estaban por una parte, el reclutar un número suficiente de pacientes, y por otra, realizar un seguimiento de estos pacientes durante un tiempo suficiente para así contestar a los objetivos planteados en el estudio. En nuestro estudio se consiguió monitorizar a 51 pacientes portadores de 64 CVCT. Estos pacientes eran dializados en dos centros: uno hospitalario y otro ambulatorio. Los dos centros utilizaban protocolos de cuidados y manipulación de los catéteres similares. Aunque nuestro objetivo no fue el hallazgo de factores de riesgo, era necesario saber que las características basales de los pacientes eran similares en ambos centros, para así calcular los datos estadísticos considerando los dos centros como uno solo. De esa manera se pudieron reclutar más pacientes y realizar un estudio más completo, con mayor número de pacientes y por lo tanto mayor potencia estadística. No es una práctica aislada el hecho de reclutar pacientes de distintos centros para realizar este tipo de estudios [408, 414, 415, 422]. En nuestro estudio, la comparación de las características entre los pacientes de ambos centros mostró que estas eran muy similares.

Por otra parte, la duración de nuestro estudio fue de 18 meses, consiguiendo incluir 51 pacientes y 64 CVCT, con una media de monitorización por paciente de 249 días. Teniendo en cuenta las dificultades de este tipo de estudios, cabe resaltar que se

DISCUSIÓN

consiguió reclutar un número de pacientes y CVCt importante y realizar un adecuado seguimiento de éstos.

Se analizaron las características clínicas y demográficas de los 51 pacientes incluidos en el estudio. Se registró la edad media de los pacientes, la distribución de sexo, la causa de IRCT, el tiempo en HD que habían permanecido previamente antes del comienzo del estudio, la localización del catéter, los catéteres previos que habían portado, los retirados por infección, así como la distribución respecto del centro en el que recibían la HD, el tiempo total de monitorización de los pacientes, número de pacientes y CVCt con episodios de BRC, muertes registradas durante el estudio y las debidas a BRC.

Los pacientes tenían una edad media de 65,7 años. Esta media de edad, aunque elevada, es la habitual, ya que los pacientes que sufren esta patología cada vez tienen edad más avanzada [378]. En el centro hospitalario, los 19 pacientes analizados presentaron una edad media de 64 años y en el centro ambulatorio los 32 pacientes tenían 67 años de media ($p=0,571$). El 53% de los pacientes en estudio eran hombres, frente a un 47% de mujeres. Respecto a la distribución de sexo en ambos centros y en el global no se halló diferencia significativa en ningún caso.

La etiología de IRCT en los pacientes incluidos en el estudio, fue concordante con las diferentes causas descritas en la literatura. La etiología de IRCT más frecuente fue la nefropatía diabética, describiéndose ésta en un 35,3% de los casos. En España, la diabetes *mellitus* es la causa definida más frecuente que provoca la inclusión de los pacientes en programas de TRS en los grupos de edad de 45 a 64 años y de 65 a 74 años, suponiendo un 23,4% [9]. En otros países, entre un 25 y un 40% de todos los pacientes que inician diálisis presentan patología diabética, lo que se asocia a mayor mortalidad y morbilidad, siendo las causas principales de mortalidad la enfermedad

DISCUSIÓN

cardiovascular y las infecciones [54, 456, 457]. Por otra parte, en un 25,5% de los pacientes la etiología de la IRCT era desconocida. De nuevo, este dato concuerda con lo reflejado en la literatura científica, puesto que la insuficiencia renal de etiología no filiada es la causa del 20,5% de IRCT en España [9].

Los pacientes incluidos en el estudio llevaban en HD una media de 1.630 días, es decir, 4,5 años. En el centro hospitalario, este tiempo era de 4 años, y, en el centro ambulatorio de 4,7 años ($p=0,070$). En otros estudios, esta media es inferior. Así, en el estudio de Aguinaga [110] los pacientes llevaban una media de 422 días.

Respecto a la utilización de los catéteres para HD, en la actualidad la FAV es el AV recomendado para aquellos pacientes sometidos a HD, sin embargo, los catéteres siguen siendo una forma común de acceso venoso en muchos pacientes. Esto conlleva entre otras consecuencias las infecciones. Un 25% de los pacientes que se dializaron en nuestro estudio, incluyendo los dos centros, eran portadores de CVCt. El objetivo de las guías de AV existentes es ambicioso respecto al control de dichos AV en las Unidades de HD. Estas guías plantean disminuir en lo posible el uso de catéteres y aumentar el uso de FAV e injertos vasculares. El uso de CVC no se contempla como primera opción, ya que los pacientes portadores de catéteres tienen una peor evolución y un peor pronóstico, pero pueden estar indicados en situaciones clínicas concretas y/o pacientes determinados [33]. El porcentaje ideal de catéteres permanentes en la Unidad de HD, se recomienda que sea inferior al 10% de los pacientes dializados en dicha Unidad, teniendo en cuenta tanto los pacientes incidentes como los prevalentes. A pesar de estos esfuerzos, en los últimos años, diversos estudios han demostrado un incremento progresivo en el uso de catéteres centrales para HD en detrimento del número de FAV [35, 36].

DISCUSIÓN

El 70,6% de la población incluida en el estudio de monitorización, ya habían portado anteriormente al menos un CVCt, por lo tanto, muchos de ellos ya habían agotado localizaciones de acceso vascular. Los 51 pacientes que participaron en el estudio portaron un total de 64 CVCt. De estos catéteres, 51 (79,7%) ya estaban insertados al comenzar el estudio de monitorización, y los 13 restantes se insertaron durante el estudio. Un total de 13 CVCt fueron retirados, 10 por mal función, suponiendo un porcentaje del 15,6%, y 3 (4,7%) por infección, concretamente por BRC. El porcentaje de retirada de los CVCt a causa de mal función fue acorde con lo descrito en la literatura [111, 121, 172, 202, 458]. La vida media de los 51 CVCt que ya estaban insertados al comienzo del estudio fue de 283 días (DE: 261). La mayoría de los estudios de monitorización de CVCt que evalúan muestras tomadas a través de dicho catéter y/o medidas preventivas en los pacientes en HD utilizan CVCt recién insertados [95, 104, 222, 404, 406, 407, 409-411, 414-416, 418, 420, 423, 424]. Aunque, en menor proporción, sí existen publicaciones que evalúan la eficacia de las medidas previstas en el estudio en catéteres ya insertados [82, 172, 408, 422]. En el estudio de Aguinaga se evaluó la colonización de los CVCt en pacientes en HD, con catéteres que llevaban insertados una media de 138 días al inicio del estudio de monitorización [110]. En su estudio, de 45 CVCt monitorizados, 15 (33,3%) habían sido insertados con anterioridad al inicio del estudio.

Distintos autores han desarrollado estudios microbiológicos de monitorización de la colonización endoluminal de los CVC con la finalidad de diagnosticar precozmente la colonización significativa del catéter y BRC [82, 95, 109, 317, 459-463]. La utilidad de estos programas de monitorización depende, en parte, de la técnica de diagnóstico empleada [464]. Algunos trabajos evalúan la instauración de estrategias preventivas de BRC en aquellos CVC en lo que se detecta colonización [82, 109, 459].

DISCUSIÓN

Sin embargo, todavía no se ha llegado a un consenso en la elección de la muestra y de la técnica de análisis para la monitorización de la colonización endoluminal del catéter. A pesar de los buenos resultados obtenidos mediante la monitorización endoluminal, no existen recomendaciones sobre la necesidad de cultivos endoluminales de vigilancia [464].

En nuestro estudio se monitorizaron un total de 64 catéteres, todos ellos centrales y tunelizados, por lo tanto el estudio respecto al tipo de catéteres es muy homogéneo y con un número de ellos considerable. Se analizó y comparó el tiempo de seguimiento de los CVCt, dependiendo del centro donde hubieran recibido la HD y respecto al desarrollo de BRC, con la finalidad de averiguar si había habido alguna diferencia en el tiempo de vigilancia de los CVCt de un centro a otro y/o que se hubiera monitorizado más el grupo que desarrolló BRC, dándole por tanto mayor posibilidad de desarrollar dicha infección. Los análisis estadísticos realizados no encontraron diferencias significativas en estos aspectos. El tiempo total de seguimiento de los CVCt incluidos en el estudio fue de 12.701 días, con una media de 249 días (DE: 137) de seguimiento por paciente, y una mediana de 227 días (P_{25} - P_{75} : 126-338). El total de días de seguimiento en el centro hospitalario fue de 5.212 y en el centro ambulatorio de 7.489. Freitas y cols incluyeron 55 CVC temporales correspondientes a 29 pacientes [109], Fux y cols monitorizaron 26 pacientes portadores de 24 CVCnt y 5 CVCt durante 1.158 catéteres por día [460], Dittmer y cols 31 CVC, 11 tunelizados y 20 temporales, con una media de seguimiento de los catéteres de 28 días por catéter [95]. Koch y cols monitorizaron 24 CVCt en 24 pacientes, una media de 97 días (rango: 9-216) [462]. En el estudio de Aguinaga, al igual que el nuestro, se monitorizaron sólo CVCt y durante un periodo de tiempo más prolongado [110]. El tiempo de monitorización global de los CVCt en los pacientes de HD fue de 15.804 días y el tiempo medio de monitorización

DISCUSIÓN

por catéter fue de 313 días (rango: 13-1.081). En el estudio de del Pozo y cols consiguieron reclutar 33 pacientes que portaron un total de 37 CVCt durante un periodo de 24 meses [82]. En general, existen pocos estudios que valoren la dinámica natural de colonización del CVCt en pacientes en HD [82, 95, 109, 460].

El 84% de los CVCt monitorizados en nuestro estudio estaban insertados en la vena subclavia. Como primera opción de localización del AV debe considerarse la vena yugular interna derecha, puesto que se asocia a mejores resultados en cuanto a flujo y a menor porcentaje de complicaciones, tanto en la inserción como en el mantenimiento del CVCt, frecuencia de estenosis y trombosis [16, 34, 55-58, 344]. Aunque los AV en vena subclavia presentan menor frecuencia de infección que los realizados en venas yugular o femoral, la recomendación es que se deben utilizar cuando el resto de AV hayan sido agotados, puesto que presentan mayor porcentaje de estenosis y trombosis [41, 72, 121, 465]. Probablemente, la mayor utilización del acceso vascular a través de la vena subclavia se debe en parte al elevado número de CVCt previos que habían portado los pacientes incluidos en nuestro estudio.

Entre las razones de finalización del estudio, el 29,4% de los pacientes murieron durante el periodo de estudio, el 3,9% abandonó el estudio antes de su término porque se les realizó un trasplante de riñón y fueron retirados del programa de HD, el 13,7% y el 7,8% también fueron retirados por realización de fistula y traslado a otro centro respectivamente. Estas causas de retirada de los pacientes del estudio fueron acordes a las reflejadas en la bibliografía por otros autores en estudios que incluyen pacientes portadores de CVCt en programa de HD [121, 458]. Durante el estudio murieron 15 pacientes (29,4%), ninguno a causa de infección, por tanto no se pudo determinar la repercusión de la BRC en la mortalidad.

5.2. BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER VENOSO CENTRAL TUNELIZADO EN PACIENTES EN HEMODIÁLISIS

5.2.1. MUESTRAS CLÍNICAS PARA DIAGNÓSTICO DE LA BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER

Como ya se ha señalado anteriormente, en estos pacientes, es de vital importancia utilizar métodos y técnicas diagnósticas de BRC conservadoras, evitando en la medida de lo posible una retirada innecesaria del catéter. Para ello es fundamental asegurarse que los posibles signos y/o síntomas que presente el paciente y/o los hallazgos microbiológicos, sean realmente debidos a una BRC.

Los procedimientos diagnósticos de BRC que no requieren la retirada del catéter son diversos. Éstos se han detallado en la introducción en el apartado 1.6.2. Los cultivos superficiales semicuantitativos, presentan un elevado VPN (99%), pero un bajo VPP (34%). Así mismo, se ha evaluado la tinción de gram del frotis del punto de inserción obteniendo también un alto VPN (97%), pero un bajo VPP (35%). Esta técnica necesita de personal técnico especializado y de mayor tiempo que otras técnicas más automatizadas. Los cultivos y tinciones de sangre aspirada por el catéter se dividen en varias técnicas. Se puede realizar tinción de la capa rica en leucocitos; la sensibilidad y especificidad obtenida es de 87% y 94% respectivamente, necesita de al menos 30 minutos y microscopio de fluorescencia, que no está disponible en todos los laboratorios. Los cultivos cuantitativos de sangre aspirada a través del CVC, tomando 10 ml de sangre y con un punto de corte de recuento al menos 5 veces superior en la muestra tomada a través de CVC respecto a la vena periférica, obtienen una sensibilidad y especificidad del 75% y 97% respectivamente, pero la técnica es muy laboriosa y cara.

DISCUSIÓN

En su lugar se puede utilizar el tiempo diferencial de positividad, puesto que la gran mayoría de los laboratorios disponen de sistemas automatizados para el procesamiento de HC. En este caso se toma como punto de corte una diferencia de 120 minutos en el resultado del tiempo de crecimiento obtenido en la sangre aspirada a través de CVC respecto a vena periférica, obteniendo una sensibilidad y especificidad del 90% y 72% respectivamente en los catéteres de larga duración. Esta técnica es muy sencilla sin embargo, requiere punción de vía periférica [335]. La técnica del cepillado endoluminal obtiene buenos valores de sensibilidad y especificidad (95% y 84% respectivamente), sin embargo, el uso de esta técnica es controvertido, ya que existe riesgo de embolización y bacteriemia secundario al proceso.

Estas técnicas encuentran su utilidad en diagnosticar la BRC una vez instaurada, ofreciendo el beneficio de diagnosticar si existe realmente BRC y proporcionando la información necesaria al facultativo para el correcto tratamiento del episodio sin necesidad de retirada del catéter. Nosotros decidimos usar la técnica descrita por Blot y cols [297, 335], que emplea el tiempo diferencial de positividad para diagnóstico de BRC durante el estudio. Usando esta técnica como referencia, ante la sospecha clínica y/o microbiológica se tomaron HC tanto centrales (de ambas ramas del CVCt) como periférico. Si se identificaba el mismo microorganismo y además con una diferencia de crecimiento de 120 minutos menor en las muestras extraídas a través de vía central, se consideraba diagnóstico de BRC.

5.2.2. INCIDENCIA DE BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER DURANTE EL ESTUDIO

La tasa de BRC fue de 1,65 episodios de BRC por 1.000 días de catéter. El tiempo total de estudio de los catéteres fue de 12.701 días, con una media de 249,0 (DE: 136,5) y una mediana de 227,0 (P₂₅-P₇₅:125,5-338,0) días de seguimiento por paciente. Todos los catéteres monitorizados fueron CVCT permanentes con *cuff*, que son los catéteres que están asociados a una menor tasa de BRC. Los diferentes estudios señalan una tasa de BRC que oscila entre 1,6 y 5,5 por 1.000 días de catéter [37, 42, 54, 104, 115, 122, 129, 173, 182, 183, 415, 466, 467]. Según estos datos, nuestro estudio registró una baja tasa de BRC comparada con la documentada en la mayoría de los estudios publicados. Además hay que tener en cuenta que en nuestro estudio no se intervino en el curso normal de la colonización endoluminal del catéter, ya que no se usaron soluciones de sellado antibiótico para prevenir ni tratar la colonización.

Existen otros estudios donde se realizan intervenciones con la finalidad de disminuir la tasa de BRC. En las series en las que usan soluciones de sellado que incluyen antimicrobianos se obtienen tasas de BRC inferiores, puesto que son capaces de reducir la incidencia de BRC en un factor de 3 con respecto a las series donde no utilizan el sellado sistemático con antimicrobianos de todos los catéteres [172, 407, 408, 415, 423, 425]. En el estudio de del Pozo y cols observaron una tasa de BRC de 0,78 episodios por 1.000 días de catéter [82]. Estos autores sellaban con teicoplanina cuando detectaban la colonización del catéter, con la finalidad de evitar el desarrollo de la infección. La tasa de colonización fue de 2,2 episodios por 1.000 catéteres paciente-día. En el estudio de Aguinaga la tasa de colonización fue de 2,15 episodios, la tasa de colonización significativa de 1,52 y la tasa de BRC de 1,01 episodios por 1.000 días de

DISCUSIÓN

uso de CVCT [110]. En este estudio también sellaban al diagnosticar colonización significativa del CVCT.

Estas bajas tasas de incidencia de colonización y/o BRC en algunas unidades de HD pueden estar debidas a la estricta adherencia a las medidas de asepsia durante el procedimiento quirúrgico de inserción y manipulación de los CVCT y a los programas de educación. El cumplimiento estricto de estas buenas prácticas, es la medida preventiva fundamental de la BRC, y cuando existe una buena adherencia a ellas, las tasas publicadas se acercan a las de los estudios en los que se utilizan sistemáticamente soluciones de sellado con antimicrobianos, evitando los posibles efectos adversos del uso de estas soluciones [43, 63, 158, 369, 370, 425].

El total de días de seguimiento en el centro hospitalario fue de 5.212 y en el centro ambulatorio de 7.489. El cálculo de la tasa realizada por centros fue significativamente diferente. En el centro hospitalario, se registraron 14 episodios de BRC, resultando una tasa de BRC de 2,69 episodios de BRC por 1.000 días de catéter, y, en el centro ambulatorio, se registraron 7 episodios de BRC resultando una tasa de 0,93 episodios de BRC por 1.000 días de catéter. Las técnicas de conexión y desconexión, cuidados del CVCT y la formación del personal sanitario fueron similares en ambos centros. La posible explicación del aumento significativo de la tasa de BRC en el centro hospitalario pudo ser debido a la recurrencia de BRC sobre tres CVCT, ya que tres pacientes sufrieron 10 episodios en un corto periodo de tiempo.

5.2.3. ETIOLOGÍA DE LA BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER VENOSO CENTRAL TUNELIZADO EN LA POBLACIÓN SOMETIDA A HEMODIÁLISIS

En nuestro estudio, de los 21 episodios de BRC documentados, *S. epidermidis* estuvo presente en 16 ocasiones (76,2%), 14 de ellas (66,7%) como única causa de BRC, y en dos casos junto con otros microorganismos, siendo el microorganismo que con más frecuencia produjo BRC. La distribución global de la etiología de los 21 episodios de BRC que sucedieron en nuestro estudio fue la siguiente: 16 episodios (76,2%) fueron causados por microorganismos gram positivos y dos (9,5%) por gram negativos. Las tres infecciones restantes (14,3%) fueron causadas por más de un microorganismo, es decir fueron infecciones polimicrobianas. En una ocasión por dos gram positivos, *S. epidermidis* y *E. faecalis*, y las dos restantes una por un gram positivo y un gram negativo, *S. epidermidis* y *S. maltophilia*, y la otra por *E. coli* y *E. faecalis*. Los gram positivos estuvieron presentes en 19 episodios (90,5%), y los gram negativos en cuatro (19,1%). De los 21 episodios de BRC documentados, 18 (85,7%) infecciones fueron causadas por un sólo microorganismo.

La distribución obtenida en nuestro estudio con respecto a la de otros estudios está en concordancia con los datos publicados. En los pacientes en HD, aproximadamente dos terceras partes de los episodios de BRC son causados por microorganismos gram positivos [37, 74, 99, 165], siendo los agentes más frecuentemente aislados los estafilococos (40-81%) , tanto ECN como *S. aureus* [72, 104, 105, 129, 130, 171, 216].

En general, los microorganismos más frecuentemente involucrados en las BRC son los ECN. Estos microorganismos forman parte de la flora cutánea, tienen pocos requerimientos nutritivos y gran capacidad de adherencia y colonización de las

DISCUSIÓN

superficies plásticas, lo que facilita la colonización y posterior desarrollo de BRC. Los ECN son los causantes entre el 40% y 60% de las BRC [95, 104, 109, 172, 173, 468]. *S. epidermidis* es el microorganismo más frecuentemente aislado. En los pacientes en HD, los ECN son también los microorganismos más frecuentemente implicados en las BRC (15-54%), siendo *S. epidermidis* el microorganismo mayoritariamente aislado [109, 130, 174-177]. Los ECN son también los microorganismos que con mayor frecuencia se aíslan en la superficie endoluminal del catéter [94, 95, 193, 460, 462, 469, 470].

Las tasas de BRC debidas a *S. aureus* oscilan entre un 22% y un 80% [93, 104, 105], aunque existe algún estudio en el que no se ha registrado ninguna BRC causada por ese microorganismo [471]. Los pacientes en HD presentan tasas de infección por *S. aureus* más elevadas que en otros grupos de pacientes. Esto es en parte debido a la elevada tasa de portadores nasales de *S. aureus* que existe entre los pacientes hemodializados, registrando una prevalencia que oscila entre el 30% y el 60% [61, 167]. Es importante señalar que durante el periodo de duración de nuestro estudio no hubo cultivos positivos para *S. aureus*, ni en las muestras de monitorización de la CEC ni en los HC tomados durante el estudio, ni ningún paciente desarrolló infección con implicación de este microorganismo. Ello se debió probablemente al efecto de la vigilancia y medidas realizadas por el servicio de Preventiva del hospital, que realizaba cultivos de monitorización para detectar portadores nasales de *S. aureus* entre los pacientes sometidos a HD, y posterior tratamiento, mediante mupirocina nasal para intentar erradicar dicho microorganismo. Se ha demostrado, que si mediante las medidas adecuadas, se consigue la disminución de portadores nasales de *S. aureus*, se produce una drástica reducción en las bacteriemias por este microorganismo [167].

DISCUSIÓN

En nuestro estudio, otro microorganismo causante de infección fue *E. faecalis*, estando implicado en tres episodios. En dos de ellos, junto con otro microorganismo, uno con *E. coli*, y en otro con *S. epidermidis*. Por lo tanto, estuvo presente en 3 de 21 episodios (14,3%). En las series publicadas se sitúa hasta en un 20% [1, 93].

Corynebacterium spp. fue aislado en un episodio de los 21 que sucedieron, suponiendo un 4,7%. *Corynebacterium* spp. es un microorganismo que forma parte de la flora cutánea, encontrándose también implicado en el desarrollo de BRC en pacientes en HD [93].

En nuestro estudio se aislaron también microorganismos gram negativos como causantes de BRC en 4 episodios (19%), tres en el mismo paciente, causado por *S. maltophilia* (en una ocasión junto con *S. epidermidis*), y otro causado por *E. coli* (aislado junto con *E. faecalis*). El aislamiento de BGN en las BRC es menos frecuente y suele estar relacionado con líquidos de infusión contaminados [93]. Aunque la incidencia de BRC debida a BGN publicada en los diferentes trabajos en general es baja, situándose entre un 10% y 41%, ésta se encuentra en aumento [1, 178]. Los microorganismos gram negativos son una causa común de BRC en pacientes inmunocomprometidos con catéteres tunelizados [108, 179], y con frecuencia se encuentran implicados en infecciones polimicrobianas (21%) [54].

En nuestro estudio, se aislaron *E. coli* y *S. maltophilia* como BGN causantes de BRC. *Escherichia coli* se sitúa como el causante de aproximadamente un 10% de las BRC en pacientes en HD [93]. *S. maltophilia* es reconocido como un importante patógeno nosocomial en pacientes debilitados, asociado tradicionalmente con CVC y previa administración de antibioterapia [472, 473]. Bacilos gram negativos como *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp., *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp. y *S. maltophilia*, se han documentado como causantes de BRC [474, 475]. Incluso

DISCUSIÓN

situándose como responsables del 30% de las BRC, con *Enterobacter* spp y *Pseudomonas* spp como principales responsables [128, 180-183]. Elting y cols registraron en su estudio 149 episodios de bacteriemias causadas por *S. maltophilia* y *Pseudomonas* no pertenecientes a la especie *aeruginosa*, en la cuales el CVC era la fuente más frecuente de infección [474]. La no retirada del catéter se asoció con una significativa tasa más elevada de fracaso en el tratamiento y BRC recurrente ($p<0,001$)

También se registraron en nuestro estudio infecciones polimicrobianas, en tres casos (14,3%). Éstas fueron causadas por *S. maltophilia* junto con *S. epidermidis*, *E. faecalis* junto con *S. epidermidis* y *E. coli* junto con *E. faecalis*. Las infecciones polimicrobianas se han documentado en algunos estudios alcanzando valores del 17% de los casos de infección [54, 72, 128, 129, 182-184].

5.2.4. FACTORES DE RIESGO EN EL DESARROLLO DE BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER

Aunque no era objeto de este estudio la identificación de factores de riesgo relacionados con características clínicas y/o demográficas en los pacientes, respecto al desarrollo de BRC, se comparó la población sometida a estudio, dividida en dos grupos de pacientes, el que desarrolló BRC y el que no lo hizo. Se analizaron y compararon las siguientes variables: edad, sexo, centro de procedencia de los pacientes, la causa de la insuficiencia renal, la localización del CVCT, el haber sido portadores de CVCT previos y el número de ellos, el tiempo que llevaban los pacientes en tratamiento sustitutivo renal mediante HD antes del comienzo del estudio, los días de permanencia del CVCT al inicio del estudio y los días de monitorización y longevidad de cada CVCT durante el estudio y en la fecha del diagnóstico de los episodios.

DISCUSIÓN

El tiempo de monitorización se comparó entre ambos grupos, para averiguar si se había dado mayor oportunidad de desarrollo de BRC, al grupo que la desarrolló. Si la monitorización hubiera sido mucho más prolongada en este grupo, en la fecha de diagnóstico de dicha infección, los resultados del análisis de los demás posibles factores de riesgo hubieran estado sesgados. El tiempo de monitorización hasta la finalización del estudio fue de 340 días (DE: 138) en el grupo de los 14 pacientes que desarrollaron BRC, y de 215 días (DE: 121) en el grupo de los 37 pacientes que no la desarrollaron, no habiendo diferencia significativa ($p=0,706$). Respecto al análisis del resto de variables, ninguna de ellas se asoció con el desarrollo de BRC, excepto el haber portado más de 3 CVCT ($p=0,041$). De los 91 CVCT previos que habían portado los pacientes antes del comienzo del estudio, 28 (30,8%) habían sido retirados por infección.

Otros estudios describen que algunas de estas variables se comportan como factores de riesgo, como la localización y longevidad del CVCT. La localización femoral es la que con mayor frecuencia está implicada en las infecciones [53, 54]. Por otra parte, la longevidad del catéter es un factor de riesgo bien documentado en relación al desarrollo de la BRC, a mayor tiempo de inserción mayor probabilidad de desarrollar dicha infección en ese catéter [93, 95, 104, 105, 149, 165, 168]. En nuestro estudio, en la fecha en la que se documentó el primer episodio de BRC en los 14 pacientes, el CVCT llevaba insertado una media de 443 días. A su vez se registró el tiempo que llevaban insertados los CVCT en los pacientes que no desarrollaron BRC y de los cuales se tenían HC estériles, registrándose esa fecha. En este caso los CVCT llevaban insertados una media de 348 días. La diferencia no fue significativa. Este dato es importante, puesto que muestra la igualdad de condiciones respecto a la longevidad del CVCT. Aunque la longevidad del catéter es un factor de riesgo reconocido para el desarrollo de BRC, los datos obtenidos en nuestro estudio sugieren que los CVCT pueden permanecer

DISCUSIÓN

insertados durante un tiempo prolongado sin detectarse colonización ni infección, al menos mediante los métodos de cultivo utilizados en nuestro estudio.

En el caso de los 10 pacientes que desarrollaron BRC por *S. epidermidis*, la longevidad del CVCt en el momento de la detección de la infección fue de 566 días de media, tiempo más prolongado que en el caso del total de pacientes, no habiendo tampoco diferencia significativa en comparación con el grupo No-BRC. Así mismo, existen estudios donde documentan tiempos de longevidad del CVCt en el momento de la detección de colonización similares a los nuestros, 562 días de media, con un rango de 16 a 1.475 días [82].

De los 14 pacientes que desarrollaron BRC, 3 (21,4%) desarrollaron al menos un episodio más de BRC. En dos casos se aisló el mismo microorganismo que había producido el primer episodio, por lo tanto BRC recurrente por el mismo microorganismo se produjo en el 14,3% de los pacientes. Estos dos pacientes sufrieron 4 episodios en total cada uno. En la literatura se describe como el hecho de haber padecido un episodio de BRC previo, se comporta como factor de riesgo para sucesivos episodios. La formación de *biocapa* sobre el catéter aumenta la dificultad de erradicación de la colonización además de aumentar la resistencia antibiótica de los microorganismos que forman parte de ella [72, 90, 129, 153, 170, 208, 218, 219].

Uno de los pacientes sufrió cuatro episodios, tres de ellos por *S. maltophilia*. Hanna y cols observaron que las BRC producidas por BGN estaban asociadas con una elevada frecuencia de recaída en el CVC que permanecía insertado, mientras que el CVC que era retirado se asociaba sólo con un 1% de recaída ($p < 0,001$) [475]. Por lo tanto, la no retirada del CVCt en este caso, pudo propiciar las siguientes recaídas por BRC sobre el mismo, aunque cabe señalar que en el último episodio que sufrió este

DISCUSIÓN

paciente ya no hubo presencia de *S. maltophilia*, pudiéndose haber erradicado finalmente por lo tanto.

La edad avanzada también se comporta como factor de riesgo [28]. En nuestro estudio no se observó diferencia significativa en la edad entre el grupo que desarrolló BRC y el que no lo hizo. La diabetes *mellitus* también está descrita como un factor de riesgo [28, 74, 93, 99, 132, 135, 136, 151, 428, 458]. Es posible que si el número de pacientes hubiera sido superior y los grupos a comparar mayores, se hubiera podido llegar a la significación en alguna variable de las ya descritas en la literatura.

5.2.5. MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LOS EPISODIOS DE BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER Y COMPLICACIONES INFECCIOSAS

De los 14 pacientes que desarrollaron BRC, tan sólo 3 pacientes en 5 episodios, presentaron manifestaciones clínicas de infección. Tres episodios fueron causados por *S. maltophilia*, uno por *E. coli* y *E. faecalis*, y el último por *S. epidermidis*, lo que supone un porcentaje del 76,2% de BRC sin manifestaciones clínicas. En los 4 primeros casos descritos, los pacientes presentaron signos y síntomas de sepsis unos minutos después de conectarse al equipo de HD. En los 14 episodios de BRC causados por *S. epidermidis*, en 1 hubo manifestaciones clínicas, lo que supone una tasa de BRC asintomática del 92,9% en BRC causadas por *S. epidermidis* en nuestro estudio. Cabe señalar que las manifestaciones clínicas en el caso de *S. epidermidis*, fueron mucho menos agudas que en los demás casos registrados. Mientras en los demás episodios, las manifestaciones fueron llamativas e indicativas de septicemia, en el caso de *S. epidermidis* las manifestaciones fueron más imprecisas.

DISCUSIÓN

En los demás pacientes diagnosticados de BRC, no se observaron manifestaciones clínicas de infección, ni durante la colonización ni durante el desarrollo de BRC. En la literatura se describe el diagnóstico de colonización y/o BRC sin aparentemente ningún signo ni síntoma de infección en el paciente. Dittmer y cols describieron episodios de colonización y BRC demostrada sin clínica asociada [95]. El 68% de los catéteres se colonizaron endoluminalmente, la mayoría por ECN, y se detectó bacteriemia periférica por el mismo microorganismo aislado en el catéter en el 35% de los pacientes. En el estudio de Freitas y cols detectaron un 70,8% de bacteriemias donde no existían signos clínicos de la misma. El microorganismo aislado con más frecuencia en los cultivos de sangre fue *S. epidermidis* (64,5%), seguido de *S. aureus* (6,5%) [109]. En el estudio de Aguinaga se registró una tasa de BRC asintomática del 37,5%, todos causados por *S. epidermidis* [110]. Nielsen y cols describieron un 73% de colonización endoluminal sobre los catéteres sin manifestaciones clínicas [317].

Es posible que la tasa de manifestaciones clínicas sea tan baja en nuestro estudio, por el tipo de microorganismos aislados, que en la mayoría de los casos fueron microorganismos de baja virulencia, como *S. epidermidis*, así como por la rápida instauración de un tratamiento antibiótico adecuado que pudo influir positivamente en la resolución de la infección. Así mismo, cabe señalar que las infecciones relacionadas con el catéter debidas a ECN se manifiestan en aproximadamente la mitad de los casos con poca expresividad clínica, no siempre presentan fiebre y sólo en ocasiones presentan signos de inflamación en la zona pericatóter [268]. Por lo tanto, en los pacientes en HD son difíciles de detectar [74, 459]. La mayoría de los pacientes presentan curso benigno de la infección y raramente desarrollan signos y síntomas de sepsis [174, 175, 177, 185].

DISCUSIÓN

En nuestro estudio, no se registraron complicaciones infecciosas en ningún paciente. En tres ocasiones fue necesario retirar el CVCT a causa de la infección e insertar un nuevo catéter. De los tres casos con retirada de catéter, en uno de ellos se aisló en las muestras de monitorización y en los HC, *E. coli* y *E. faecalis*, y en los dos restantes, el microorganismo aislado fue *S. epidermidis*. En estos dos últimos episodios, sólo uno de ellos presentó manifestaciones clínicas. En ambos casos los CVCT llevaban insertados un periodo prolongado y la bacteriemia no se aclaraba a pesar del tratamiento antibiótico adecuado, y por esa razón se decidió retirar el CVCT. En ocasiones, no es posible tratar el CVC *in situ* por las circunstancias del paciente, se produce fracaso de dicho intento o no es posible recambiarlo mediante una guía. La necesidad de retirar el CVC y reemplazarlo ocurre entre un 6% y un 39% de las ocasiones [47, 54, 72]. Aunque la retirada y reimplantación de un nuevo catéter pueda estar indicada, esta estrategia no está exenta de inconvenientes y de ciertas complicaciones para el paciente [59, 165]. Por esto, cada vez más se intenta salvar el catéter en determinados pacientes. Un estudio señalaba que la conservación del CVC con terapia de sellado antimicrobiano conseguía un periodo equivalente o superior libre de infección comparado con la inmediata retirada y reinserción dilatada en el tiempo del catéter [182].

5.2.6. TRATAMIENTO DE LA BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER

El éxito del manejo de la BRC requiere el tratamiento de dicha infección, así como la esterilización del catéter. En la literatura se describe como los antibióticos usados tanto sistémicamente como para el sellado del catéter, son efectivos en el aclaramiento de la BRC y esterilización de dicho catéter [183, 358, 418, 428, 476, 477].

DISCUSIÓN

El sellado de la luz del catéter con sustancias antimicrobianas se puede usar tanto para el tratamiento de las infecciones que afectan a dicho catéter, como en la profilaxis de las mismas. El éxito de esta técnica se ha evaluado en diferentes trabajos [130, 182-184, 353-359]. Varios estudios han documentado tratamiento satisfactorio de la BRC sin necesidad de retirar el CVC [478-482]. Salvar el catéter implica la esterilización del catéter y un apropiado tratamiento de la bacteriemia [352].

En nuestro estudio se usó vancomicina para tratar las BRC por *S. epidermidis*, *E. faecalis* y *Corynebacterium* spp., cuando éstos eran causantes únicos de la infección. Para *S. maltophilia* y *S. epidermidis* se usó en el primer episodio vancomicina, gentamicina y trimetoprim/sulfametoxazol como terapia sistémica, y, sellado con gentamicina. En los siguientes episodios se perdió sensibilidad antibiótica frente a trimetoprim/sulfametoxazol, y se usó ceftazidima. El episodio de *E. coli* y *E. faecalis* se trató con gentamicina y vancomicina sistémicamente y gentamicina para el sellado del catéter.

Según la literatura, las mezclas de heparina con vancomicina permanecen estables al menos durante 72 horas a 37°C [352, 483, 484], periodo suficiente, ya que dicha solución se recambiaba en cada sesión de HD. El riesgo de precipitación de la vancomicina, cuando se administra simultáneamente con heparina, depende de las concentraciones en las que se administren ambos componentes [352, 485-489]. La vancomicina es menos efectiva que otros antimicrobianos para la esterilización de los catéteres [352], mostrando elevadas concentraciones mínimas bactericidas cuando la bacteria se encuentra adherida a superficies plásticas [490, 491]. La vancomicina tiene escasa actividad frente a los estafilococos embebidos en la *biocapa* [492]. A pesar de la citada escasa actividad de la vancomicina frente a los estafilococos embebidos en la *biocapa*, ésta ha demostrado que posee características químicas adecuadas que

DISCUSIÓN

favorecen que pueda ser usada para el tratamiento de las BRC producidas por estafilococos mediante sellado antibiótico [353, 493]. El uso de vancomicina junto con heparina para prevenir BRC, ha mostrado una reducción en las tasas de infección en algunos estudios [89, 494], aunque otros fallaron en el intento de demostrar dicho beneficio [495, 496]. En el estudio de Raad y cols el 80% de las BRC producidas por ECN se trataron con éxito con glucopéptidos (vancomicina) sin necesidad de retirar el catéter; sin embargo, el 20% de ellas recurrieron [365].

En las BRC causadas por BGN, es prudente retirar el catéter y administrar el tratamiento antimicrobiano adecuado. El problema sobreviene cuando los AV son limitados y se debe intentar conservar el catéter. Existe documentación, aunque limitada, de que las soluciones de sellado con antibióticos como gentamicina, amikacina o ceftazidima han sido satisfactoriamente usadas en el tratamiento de estas infecciones [178].

Por lo tanto, la rápida identificación de la colonización endoluminal del catéter, de los microorganismos implicados y de su patrón de sensibilidad antibiótica, son de vital importancia. Con ello, se evita la emergencia de aislados resistentes, y al realizar una intervención rápida y dirigida, el manejo y la evolución de los pacientes es mejor [497-502]. En el caso de los aislados de ECN, la detección de resistencia a meticilina es esencial para una rápida y apropiada terapia antimicrobiana, ya que conociendo el patrón de sensibilidad antibiótica se limita el uso inapropiado de glucopéptidos.

La cobertura empírica inadecuada o el retraso en el tratamiento antibiótico correcto, aumentan las complicaciones y limitan la supervivencia del paciente. Sanz Carabaña y cols reportaron en su estudio un 23% de pacientes con cobertura antibiótica inadecuada [503]. En el estudio de Valles y cols la mortalidad aumentó en cuatro veces a causa del tratamiento antibiótico empírico inadecuado [504]. Pazos y cols

DISCUSIÓN

identificaron como factor pronóstico independiente en la mortalidad el tratamiento inadecuado, con un RR de 6,67 [505]. En su estudio, hasta un 18% de los pacientes sufrieron tratamiento antibiótico inadecuado. Leibovici y cols también documentaron el tratamiento empírico inapropiado como un factor significativo e independiente asociado con la mortalidad en los pacientes con bacteriemia [506]. Ibrahim y cols documentaron en su estudio que el 29,9% de los pacientes recibieron tratamiento inadecuado y su asociación con el aumento en la mortalidad [507].

5.3. DINÁMICA DE COLONIZACIÓN ENDOLUMINAL DEL CATÉTER VENOSO CENTRAL TUNELIZADO

5.3.1. MUESTRAS CLÍNICAS PARA MONITORIZAR LA COLONIZACIÓN ENDOLUMINAL DEL CATÉTER

Una cuestión de vital importancia en el diseño del estudio era establecer el tipo de muestra que se iba a utilizar para monitorizar la CEC y la periodicidad de la misma. La muestra y la técnica empleada debían permitir la detección de la CEC, para así poder predecir el desarrollo de BRC. La muestra seleccionada, debía mantener un equilibrio entre la información diagnóstica microbiológica obtenida y el riesgo asociado a la manipulación de los AV en los pacientes. La técnica debía ser conservadora, con la menor manipulación posible del CVCT, para reducir al máximo las posibles complicaciones asociadas a dicha manipulación, maximizando en lo posible los valores de sensibilidad y especificidad y valores predictivos.

Se han publicado estudios que pretenden evaluar la colonización en los catéteres y detectar BRC en los pacientes sometidos a HD mediante diferentes tipos de muestras. Freitas y cols utilizaban muestras de 10 ml de sangre obtenidas semanalmente a través

DISCUSIÓN

de vena periférica de los pacientes tras 15 minutos del inicio de la sesión de HD [109]. De esta manera, conseguían diagnosticar los episodios de bacteriemia, una vez establecidos, pero sin anticiparse a su desarrollo. Por otra parte, esta estrategia suponía numerosas venopunciones en pacientes muy comprometidos normalmente en AV, y podía contribuir a empeorar la anemia muchas veces ya instaurada en estos pacientes [344, 508-511].

En los estudios registrados en la literatura que pretenden estudiar la dinámica de colonización, en aquellos que toman muestras de sangre a través del CVC, en algunos descartan los primeros ml obtenidos a través del CVC. Este contenido es una mezcla de la solución anticoagulante inoculada al término de la sesión de HD anterior, normalmente heparina, y sangre del paciente. En algunos estudios descartan los primeros 5 ml [95, 172], bien los 2 primeros ml [460], o reflejan simplemente que retiran la heparina contenida en la luz del CVC antes de tomar la muestra [111], siendo un método comúnmente usado tanto en población infantil como adulta [512]. La razón que exponen los autores es evitar posibles interacciones de estas soluciones en el cultivo posterior y/o eliminar posibles contaminaciones y/o efecto antimicrobiano de la heparina [513, 514]. En numerosos trabajos se han descrito contaminaciones en los HC extraídos a través del CVC [515-518], por ello intentan minimizar este efecto descartando los primeros ml de las muestras que usan tanto para el diagnóstico de colonización como para el diagnóstico de BRC. Ruge y cols recomiendan descartar los primeros 5-10 ml de sangre obtenida a través de los CVC [519]. Sin embargo, otros estudios publicados no recomiendan descartar ninguna cantidad de sangre [508, 512, 520, 521], no encontrándose diferencias en los ratios de contaminación entre los que cultivan estos primeros ml de muestra y los siguientes [512, 520].

DISCUSIÓN

Koch y cols utilizaron para la detección de colonización, el cultivo de la solución de heparina que se introduce en el lumen en el período interdiálisis y una muestra cepillado endoluminal tomada después de la retirada del líquido de sellado [462]. De entre los 2,3 y 1,8 ml de capacidad que contiene normalmente el lumen del CVCt de HD, denominado espacio “muerto”, extrajeron 1 ml de heparina para así evitar la inclusión en la muestra de sangre. Las muestras se tomaban en pacientes asintomáticos. El resultado obtenido comparando ambas muestras fue que el cultivo del líquido de sellado de heparina detectaba mejor la colonización endoluminal del catéter que la técnica del cepillado endoluminal. En teoría, la disrupción de la *biocapa* que produce la técnica de cepillado endoluminal, debería obtener mayor número de microorganismos, mientras en el cultivo de heparina se espera que haya menor cantidad de microorganismos de los presentes en la *biocapa*. Aunque el potencial de recuperación de microorganismos del cepillado endoluminal a priori es superior, es posible que las bacterias que recupera, residentes de la *biocapa*, no sean tan viables para el crecimiento en cultivo y que los que se encuentran en el fluido de heparina representen organismos más viables. Esta teoría podría explicar estos resultados. Guiot y cols evaluaron diferentes tipos de muestras: el fluido de heparina contenido en el lumen, sangre aspirada a través del CVC y sangre obtenida a través de venopunción, en pacientes hematológicos con y sin signos clínicos de infección [461]. La heparina era retirada diariamente. Concluyeron que la heparina era una muestra válida para la detección de la colonización endoluminal del catéter, y que 3 ó más muestras positivas consecutivas podían predecir el desarrollo ulterior de BRC en un 100% de los casos. Salzman y cols evaluaron los cultivos tomados mediante torunda del lumen de los catéteres en neonatos, concluyendo que éstos eran predictores o coincidentes con el desarrollo de BRC en un 54% de los casos [470].

DISCUSIÓN

Con la información reunida, decidimos no descartar esa parte de heparina inoculada en la sesión anterior, ni los primeros ml de sangre por varias razones:

- La heparina está en contacto con el lumen del catéter la totalidad del tiempo transcurrido interdiálisis (unas 48 horas). Durante ese periodo de tiempo, si existe *biocapa* en el catéter, existe la posibilidad de que los microorganismos puedan desprenderse de ella y pasar a formar parte de ese volumen que queda retenido en el catéter. En los primeros estadios, cuando la colonización es baja, es posible que el número de bacterias liberadas sea reducido o nulo, pero según aumenta la biomasa de la *biocapa*, este número puede ir en aumento, hasta poder ser detectado mediante las técnicas convencionales de cultivo. En los primeros estadios, para detectar dicha colonización, deberían emplearse técnicas más sensibles como la microscopía electrónica de barrido. En un estadio más avanzado, la liberación de microorganismos a torrente sanguíneo sería suficientemente elevado como para detectarlo también mediante una venopunción periférica, y ya se encontraría instaurada la BRC.
- Este volumen de heparina, junto con unos ml de sangre que se aspira es sistemáticamente descartado, por lo tanto, es una muestra que no supone ninguna extracción adicional de sangre, por pequeña que sea, y no requiere material o manipulación extraordinaria para el paciente o el catéter, por ello las molestias y/o cargo añadido para personal sanitario y pacientes son nulas.
- En numerosos estudios se ha documentado que la actividad antimicrobiana de la heparina no es suficiente para inhibir el crecimiento bacteriano [216, 352].

DISCUSIÓN

Por estas razones se escogieron los primeros 5 ml de fluido del catéter que son descartados siempre en el proceso de conexión del CVCT del paciente al equipo de HD, el cual contiene una mezcla de heparina (aproximadamente 2ml) y sangre (aproximadamente 3ml).

El procesamiento de las muestras se implementó de manera que fueran inoculadas en la misma Unidad de HD en el momento de la extracción, en las botellas estándar de HC aerobias. Posteriormente, estos frascos eran procesados en el laboratorio de Microbiología en el mismo sistema que se utiliza para el procesamiento de los hemocultivos. Además, este sistema automático de detección permite correlacionar el tiempo de positividad con el inóculo inicial bacteriano contenido en la muestra, y podría ser útil en la discriminación de infecciones clínicamente significativas [335, 341, 522]. Los estudios muestran una clara correlación entre el número de organismos recuperados de un catéter y la probabilidad de desarrollar BRC [95, 301].

Así mismo, se planteó estudiar en las muestras que fuera posible, la validez del cultivo del líquido de sellado exclusivamente. Este aspirado de heparina se puede obtener sin materiales, equipamiento o procedimientos especiales, siendo muy barato, simplemente una jeringa para la extracción y posterior cultivo en los medios habituales. El inconveniente de este tipo de muestras es que requiere personal de laboratorio para su procesamiento inmediato. Así mismo, en el proceso de extracción de la muestra, supone cierta manipulación, puesto que hay que introducir una jeringa para obtener la heparina, y después otra jeringa para obtener la muestra restante para introducir en el frasco de hemocultivo. A veces es inevitable que se mezcle la solución de heparina con la sangre contenida en el CVCT.

Existen publicaciones donde se estudia el impacto y la utilidad de los cultivos de la zona externa del catéter en pacientes en HD [130, 317, 318]. En ellas concluyen que

DISCUSIÓN

estos cultivos no sirven para predecir o prevenir las BRC en esta población de pacientes. En el estudio de Onder y cols de 188 BRC sólo en 4 ocasiones (2%) los microorganismos aislados en la zona externa se correlacionaron con los productores de la BRC [130]. Existen publicaciones que señalan la falta de correlación entre el aspecto del orificio de entrada del catéter y la presencia de BRC [320, 322]. Puesto que diversos estudios no encontraron la utilidad de realizar estos cultivos de vigilancia en la zona externa, en nuestro estudio no fue planteado como método de vigilancia.

5.3.2. PERIODICIDAD DE LAS MUESTRAS

En el diseño del estudio, había que establecer la periodicidad de las muestras, de tal manera que minimizara los riesgos asociados a la manipulación del CVCT, que no supusiera excesiva carga para el personal de la unidad de HD a la hora de la extracción de las muestras, ni en el laboratorio en el procesamiento de las mismas, ni excesivos costes asociados. Pero no debían ser muy dilatadas en el tiempo, para poder monitorizar la dinámica de colonización de manera efectiva durante el estudio.

En la mayoría de los estudios se toman las muestras bien semanalmente [95, 109, 317, 460], o bien quincenalmente [82, 172]. Incluso, en pacientes hematológicos, se ha recogido y cultivado la heparina de la luz del catéter diariamente [461]. En los estudios donde la periodicidad se estableció quincenal, la monitorización de la colonización fue efectiva, por lo tanto en nuestro estudio se estableció una periodicidad quincenal para la toma de muestras de vigilancia CEC.

Esta periodicidad podía verse alterada en el caso de que se aislaran microorganismos con elevada virulencia, tales como *S. aureus*, bacterias gram negativas y levaduras, como figura detallado en el apartado 3.4.2.1. de material y métodos. En estos casos en la siguiente sesión de HD que acudiera el paciente o si el paciente acudía

DISCUSIÓN

por la presencia de signos y/o síntomas de infección, entonces se tomaban nuevamente tanto muestras de vigilancia como las muestras necesarias para realizar el diagnóstico de BRC. La finalidad de este procedimiento era detectar si existía bacteriemia y si la misma pudiera estar relacionada con el catéter.

5.3.3. COLONIZACIÓN DEL CATÉTER VENOSO CENTRAL TUNELIZADO

Se monitorizaron un total de 64 CVCT de los cuales, durante el periodo de estudio, se colonizaron significativamente 16 (25%) CVCT en 16 pacientes. Catorce pacientes pertenecían al grupo de BRC y 2 al grupo de No-BRC. Esta diferencia de positividad en los pacientes (100% *versus* 5,4%) fue significativa entre ambos grupos ($p < 0,001$). De los 51 pacientes que participaron en el estudio, 28 (50,9%) tuvieron en alguna ocasión cultivos positivos de las muestras de vigilancia. Hubo 23 episodios de colonización significativa, de ellos, 21 se registraron en 14 pacientes que posteriormente desarrollaron BRC. En 2 CVCT, pertenecientes al grupo de No-BRC, la colonización no persistió, las muestras extraídas en las siguientes intervenciones fueron negativas. Por lo tanto, se colonizaron de forma persistente 14 (21,9%) CVCT. Como consecuencia de estos resultados, se estimó una tasa de colonización significativa de 1,81 episodios de colonización por 1.000 días de catéter.

Se cultivaron un total de 1.521 muestras de vigilancia de la CEC. El porcentaje de positividad global registrado fue del 13,9%. En las botellas que contenían mezcla de sangre y heparina (1.351) se registró un 13,2% de positividad, y en las 170 muestras de heparina cultivadas se registró un 19,4% de positividad. El microorganismo más frecuentemente aislado fue *S. epidermidis*, que estuvo presente en un 11,6% del total de muestras cultivadas.

DISCUSIÓN

El porcentaje de colonización registrado en nuestro estudio es menor que en la mayoría de estudios publicados. Existen publicaciones que sugieren que una vez insertados los catéteres, la práctica totalidad de estos se colonizan [88, 95, 198-201]. En el estudio de Dittmer y cols documentaron que el 50% de los catéteres se colonizaban en las 5 primeras semanas tras la implantación, con un total de 68% de catéteres colonizados, y tras 16 semanas desde la inserción todos los catéteres estuvieron colonizados [95]. Fux y cols registraron un 65,5% de los catéteres colonizados por ECN [460]. En el estudio de Koch y cols el 62,5% de los catéteres se encontraban colonizados [462]. Freitas y cols realizaron su estudio sobre CVC no tunelizados, los cuales muestran tasas más elevadas de BRC. Estos autores documentaron que un 50,9% de estos catéteres se colonizaban, y estimaron una tasa de colonización de 23,4 episodios por 1.000 días de catéter. También analizaron muestras de sangre extraídas de vía periférica obtenidas semanalmente. De 194 muestras tomadas en 29 pacientes que portaron 55 catéteres, en 30 (15,5%) se obtuvo crecimiento. Estas muestras positivas correspondieron a 20 pacientes. La tasa estimada de BRC en este estudio fue de 9,2 episodios por 1.000 días de catéter [109].

En el estudio de Aguinaga los resultados son más parecidos a los nuestros. Diagnosticaron episodios de colonización y/o BRC en el 33% de los CVCT monitorizados mediante las técnicas conservadoras empleadas. La tasa de colonización fue de 2,15 episodios y la de colonización significativa de 1,52 episodios por 1.000 días de uso de CVCT [110]. Del Pozo y cols registraron 28 episodios de colonización en 13 pacientes y, obtuvieron una tasa de 2,2 episodios de colonización por 1.000 catéteres paciente-día [82]. Kanna y cols obtuvieron mediante la técnica del cepillado endoluminal un 18% de los catéteres de pacientes en HD colonizados, y por microscopía electrónica de barrido un 36% [202].

DISCUSIÓN

En nuestro estudio, todos los episodios de BRC fueron precedidos por muestras de colonización endoluminal positivas. El microorganismo encontrado en el interior del CVCT en estas muestras fue el mismo que el causante del episodio de BRC. Este hallazgo es muy importante, ya que en el 100% de las ocasiones, cuando el HC tomado se positivizó ya se conocía el microorganismo causante de dicha infección y su patrón de sensibilidad. Sólo se retiraron 3 CVCT por causa de BRC. En los tres casos, se analizaron los microorganismos que colonizaban la parte externa e interna del lumen del catéter. Hubo coincidencia en los tres episodios respecto a los microorganismos que se habían aislado en las muestras de colonización y en los hemocultivos. Freitas y cols analizaron los 28 catéteres que se retiraron. De ellos, 15 (53,5%) presentaron cultivo positivo, 14 (93,3%) mostraron los mismos microorganismos en la punta del catéter y en el cultivo de sangre [109].

Durante el periodo de estudio la proporción de muestras de colonización endoluminal positivas aumentó según se incrementaba el tiempo de permanencia del CVCT. Sin embargo, la proporción de muestras positivas en el grupo que desarrolló BRC fue mayor, incrementándose esta proporción de forma significativa desde un 16,5%, cuando llevaba un tiempo de permanencia entre 180-360 días, hasta un 29,6% de muestras positivas, cuando ya se superaba el año de inserción del catéter. La longevidad del catéter es reconocida como factor de riesgo en el desarrollo de BRC [93, 104, 165, 168]. En nuestro estudio, en el grupo que no desarrolló BRC también se incrementaba la proporción de muestras positivas según aumentaba el tiempo de permanencia del catéter, pero este incremento no fue significativo entre los periodos analizados.

Como se ha citado anteriormente, el microorganismo más frecuentemente aislado fue *S. epidermidis*. Aunque en este tipo de pacientes es frecuente aislar *S. aureus*

DISCUSIÓN

como causa de colonización endoluminal y de BRC, en nuestro estudio no se aisló este microorganismo ni en las muestras de vigilancia ni en los hemocultivos. Aunque no obtuvimos ningún aislamiento de *S. aureus* en las muestras de colonización, cabe la posibilidad de que el crecimiento de *S. aureus* sea demasiado rápido para detectarse mediante los cultivos de vigilancia regular antes del desarrollo de la BRC [82]. En diversos estudios se ha observado que la colonización endoluminal de *S. aureus* es muy difícil de detectar. Probablemente, los numerosos factores de virulencia de *S. aureus* hacen que la colonización evolucione muy rápidamente hacia el desarrollo de BRC [110, 111, 172].

5.3.4. TIEMPO TRANSCURRIDO DESDE LA INSERCIÓN HASTA LA DETECCIÓN DE COLONIZACIÓN Y BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER

De manera global, sin tener en cuenta el tipo de microorganismo, el tiempo transcurrido desde la inserción del CVCT, en los 14 pacientes que desarrollaron BRC, hasta el desarrollo de la primera BRC, fue de 443 días de media. Desde la inserción del CVCT hasta la detección de colonización transcurrieron una media de 366 días. Desde la inserción hasta la detección de colonización significativa, 391 días, y desde que se detectó dicha colonización significativa hasta el desarrollo de BRC transcurrieron una media de 52 días y una mediana de 32. Estos tiempos corresponden a los hallados en el primer episodio de cada CVCT, y no están incluidos los siguientes episodios sobre el mismo CVCT. Así mismo, si calculamos estas mismas variables en el primer episodio causado por *S. epidermidis* (10 episodios), obtenemos unos tiempos de colonización y BRC desde la inserción del CVCT, más elevados que los calculados de manera global (Figura 19). Desde la inserción hasta la detección de colonización transcurrieron una

DISCUSIÓN

media de 479 días, hasta la detección de colonización significativa 497 días y hasta el desarrollo de BRC 566 días. En este caso, el tiempo transcurrido desde la detección de colonización significativa hasta el desarrollo de BRC fue de 69 días.

En otros estudios publicados, el tiempo en el que se detecta la colonización del catéter es mucho más temprana que el registrado en nuestro estudio. Dittmer y cols documentaron que la colonización endoluminal se producía en una media de 27 días (rango de 5 a 115 días) tras la inserción del catéter y como se ha señalado en el punto anterior, el 50% de los catéteres se colonizaron en las 5 primeras semanas tras la implantación [95]. Fux y cols observaron un 65,5% de los catéteres colonizados por ECN, documentándose la colonización transcurridas tres semanas tras la inserción de los catéteres [460]. En el estudio de Koch y cols todos los catéteres que llevaban insertados 30 días o más, se encontraban colonizados, no encontrándose ningún cultivo positivo antes de los 30 días [462]. Freitas y cols obtuvieron una media de tiempo de colonización de 18,5 días desde la inserción en CVCnt [109]. Sin embargo, en el estudio de del Pozo y cols se obtuvieron unos resultados más similares a los nuestros. Estudiaron también CVCt en pacientes en HD. En el momento de la detección de la colonización, los CVCt llevaban insertados una media de 562 días (rango: 16 a 1.475 días) [82]. En la revisión de Snaterse y cols, donde se utilizaron soluciones de sellado antimicrobiana para prevención de BRC, el tiempo desde la inserción hasta la colonización fue de media de 146 días (rango de 37 a 365 días) [412]. Por lo tanto, como demuestra nuestro estudio, es posible mantener el catéter “libre de colonización” durante un elevado periodo de tiempo.

Es posible que la menor incidencia observada tanto de colonización como de BRC en comparación con otros estudios, a pesar del elevado período de seguimiento de los CVCt en nuestro estudio, sea debido al estricto seguimiento de las normas de

DISCUSIÓN

inserción y manipulación del catéter, a la mejora en las técnicas y materiales utilizados en el presente y a los programas de educación implantados en la unidad. Dicha manipulación se realizó sólo por personal especializado de la unidad de HD, correctamente formado y actualizado en sus conocimientos, así como la concienciación del paciente con respecto a las normas de higiene y cuidados de la zona externa y apósito. La implementación de todas estas mejoras citadas ha demostrado su reducción en el riesgo de desarrollar BRC [157-159, 383-387].

DISCUSIÓN

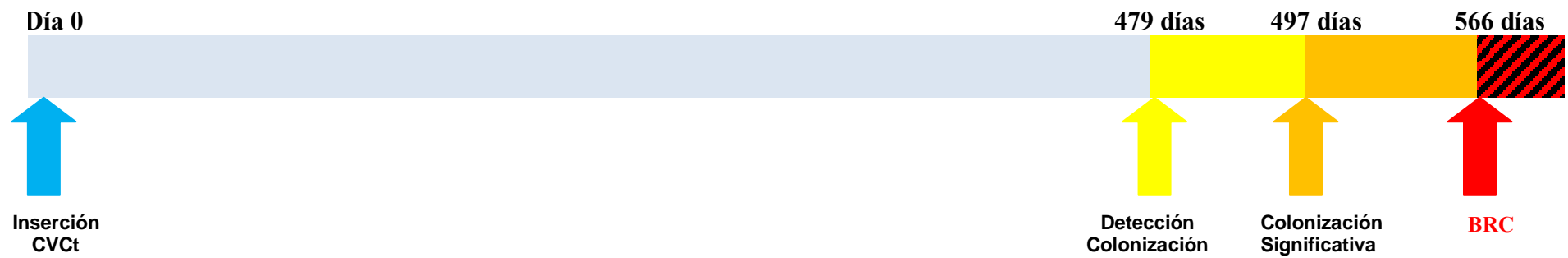


Figura 19. Historia natural de la colonización endoluminal del CVCt en *S. epidermidis*. Días desde la inserción del CVCt en los que se produce de media la colonización del catéter, colonización significativa y BRC.

5.3.5. TIEMPO TRANSCURRIDO DESDE LA DETECCIÓN DE COLONIZACIÓN HASTA EL DESARROLLO DE BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER

Con la finalidad de ampliar información sobre el tiempo que permanece el CVCt colonizado hasta que se desarrolla la BRC, se calculó el tiempo transcurrido desde la detección de la colonización hasta el desarrollo de la BRC, teniendo en cuenta los 21 episodios de BRC. En este caso, los días transcurridos fueron una media de 41 días. Esta media es menor que la calculada teniendo en cuenta únicamente el primer episodio de BRC de cada paciente, 52 días, referida en el apartado anterior. En el estudio de Aguinaga el tiempo transcurrido desde la detección de colonización significativa hasta el desarrollo de BRC fue de 50 días [110]. Además documentan el tiempo transcurrido desde la detección de colonización del CVCt hasta el desarrollo de colonización significativa de 28 días, oscilando entre 2 y 240 días. En el estudio de del Pozo y cols calculan una mediana de tiempo desde la detección de colonización hasta el desarrollo de BRC de 36 días [82]. Para este cálculo excluyeron 4 pacientes que desarrollaron BRC pero en los que no se detectó colonización previa.

En nuestro estudio, en los 16 episodios en los que se encontraron implicados ECN, la media entre la detección de colonización y BRC fue de 53 días, con una mediana de 32 días. Para BRC polimicrobianas y/o causadas por microorganismos diferentes a ECN (7 episodios), ésta fue de 6 días, con una mediana de 2 días. La diferencia de días transcurridos entre la colonización y la BRC en ambos grupos fue significativa ($p=0,032$). Probablemente estas diferencias sean debidas a las características de crecimiento y los tiempos de generación de cada una de las bacterias. En el segundo grupo se encuentran implicados microorganismos gram negativos, como

DISCUSIÓN

E. coli y *S. maltophilia*, con tiempos de generación muy inferiores a los ECN, por lo tanto es normal que se desarrolle BRC y/o manifestaciones clínicas mucho antes [523-525].

Basándose en los cultivos endoluminales, el intervalo entre la colonización inicial y el desarrollo de BRC podría estar relacionado con el tipo de microorganismo y el tiempo requerido para alcanzar una biomasa crítica de bacterias.

5.3.6. RECURRENCIA DE LOS EPISODIOS DE COLONIZACIÓN Y BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER

Tres CVCT, de los 14 que desarrollaron BRC, tras el primer episodio de colonización y BRC tratada adecuadamente y con HC de control estériles tras dicho tratamiento, volvieron a colonizarse y a desarrollar BRC posteriormente.

Dos CVCT se volvieron a colonizar en tres ocasiones además del primer episodio y otro paciente en una ocasión más. Un CVCT desarrolló 4 episodios por el mismo *S. epidermidis*. Otro CVCT desarrolló también 4 episodios, 3 por *S. maltophilia* y el último por *E. faecalis*, con implicación en el primer y cuarto episodio por el mismo *S. epidermidis*. El último desarrolló dos episodios por diferente microorganismo, uno por *E. faecalis* y el siguiente por *S. epidermidis*. Por lo tanto, 7 de los 21 (33,3%) episodios pueden considerarse recurrentes.

Los porcentajes de BRC recurrentes en los CVCT registrados en la literatura, varían normalmente entre un 12% y un 66%. Se asocia con una mayor probabilidad de fracaso del tratamiento el hecho de intentar salvar el catéter [54, 72, 128, 129]. También depende del microorganismo aislado, en el caso de *S. aureus* el riesgo de fracaso es elevado [128].

DISCUSIÓN

En nuestro estudio, en un período breve de tiempo tres CVCT sufrieron numerosos episodios de BRC. El tiempo transcurrido entre episodios, una vez que el CVCT ya había sufrido el primer episodio de colonización y BRC, disminuyó ostensiblemente respecto del tiempo que tardó en desarrollarse el primero. El primer episodio de BRC se desarrolló tras una media de 443 días desde la inserción del CVCT. Sin embargo, en los siguientes episodios la media entre episodios fue de 93 días. En otros estudios se han descrito períodos entre episodios tan cortos como 27 días [418], en otros tras una media de 50 días [526] o tras 57 días entre el primer episodio de BRC y el segundo [82].

En la literatura se documenta como al aumentar el número de episodios en el mismo CVCT, el tiempo entre episodios de colonización del catéter disminuye progresivamente [110]. En nuestro estudio, la disminución no fue progresiva en todos los casos, pero sí muy inferior al tiempo registrado con respecto al primer episodio.

El desarrollo de un episodio infeccioso en un CVCT se comporta por sí mismo como factor de riesgo para el desarrollo de episodios posteriores en ese mismo CVCT. Probablemente esto ocurra por la incapacidad del tratamiento antimicrobiano de erradicar totalmente la *biocapa* que recubre el catéter, volviendo a ser ésta fuente de infección en el paciente, incluso aunque el microorganismo aislado en el segundo episodio sea diferente, ya que en la *biocapa* pueden coexistir diferentes especies [170, 418, 527-529].

5.3.7. TIEMPO DE POSITIVIDAD DE LAS MUESTRAS DE COLONIZACIÓN ENDOLUMINAL

Las muestras de mezcla de sangre y heparina, obtenidas a través del CVCT, fueron introducidas en las botellas estándar de cultivo de HC para su monitorización en el sistema automático BacT/Alert®. En el grupo de botellas pertenecientes a los pacientes que desarrollaron BRC por *S. epidermidis*, una vez diagnosticada la colonización, la media del tiempo de positividad fue de 14,7 y la mediana de 14,5 horas. Para las BRC polimicrobianas o microorganismos diferentes a ECN, 9,5 horas de media y 9,7 horas de mediana. Por último, el grupo de las muestras de vigilancia de la CEC pertenecientes al grupo de las No-BRC obtuvo un resultado de 28,9 horas de media y 26,1 de mediana.

Las diferencias observadas en los tiempos de positividad entre los grupos fueron estadísticamente significativas en todos los casos. Esto es importante, puesto que indica que el tiempo de positividad de las botellas de las muestras de vigilancia de la CEC aporta información válida a cerca de la cantidad de microorganismos que forman parte y/o se liberan de la *biocapa* que recubre la superficie del catéter. Un inóculo más elevado de microorganismos produce tiempos de positividad menores [335]. Además sabemos que las muestras obtenidas a través del catéter pueden reflejar sólo colonización de dicho catéter y no necesariamente bacteriemia [461].

Es lógico que el grupo de muestras que contenían microorganismos diferentes a ECN tuviera esos tiempos tan reducidos, puesto que se incluían bacterias con tiempos de generación reducidos como los BGN. La diferencia en el tiempo de generación de *E. coli* con *S. epidermidis* es elevada, siendo en *E. coli* de unos 20 minutos en condiciones óptimas, incluso inferior (hasta 12,5 minutos), y en *S. epidermidis* oscila entre 52 y 67 minutos en crecimiento planctónico [523-525]. Por lo tanto, estas

DISCUSIÓN

diferencias en el tiempo de generación, se reflejan en el tiempo de positividad de las botellas. Se han realizado estudios con microorganismos concretos como *S. epidermidis*. Así Haimi-Cohen y cols relacionaron en botellas de BACTEC 9240, tiempos de positividad $> 20,7$ horas, $\leq 14,0$ horas y $\leq 13,4$ horas con concentraciones de <10 UFC/ml, ≥ 50 UFC/ml y ≥ 100 UFC/ml respectivamente para *S. epidermidis* [530]. Schelonka y cols obtuvieron en botellas pediátricas de BacT/Alert®, introduciendo 2 ml de sangre, tiempos de positividad de 22,5 horas para reducido número de colonias de *S. epidermidis* (≤ 5 UFC/ml) [531]. Rogers y Oppenheim en el sistema BacT/Alert®, encontraron que inóculos de ≤ 10 UFC/ml de *S. epidermidis* se detectaban en $\geq 16,3$ horas y que inóculos de ≥ 100 UFC/ml de *S. epidermidis* se detectaban en $\leq 14,8$ horas [341].

Por lo tanto, esta diferencia en el tiempo de positividad de las botellas, se puede usar para reforzar el diagnóstico de una subsecuente BRC. Tiempos más prolongados indicarían una colonización más temprana, con poca posibilidad de coexistir con bacteriemia, sin embargo, tiempos de crecimiento más cortos, indicarían un nivel de colonización más elevado, pudiendo coexistir con la bacteriemia o con elevadas probabilidades de que esta se produjera en un período corto de tiempo.

5.3.8. ¿SE COLONIZAN AMBAS RAMAS DEL CATÉTER EN IGUAL PROPORCIÓN?

Nuestro estudio detectó que la rama arterial del catéter vascular se colonizaba más frecuentemente que la rama venosa. Se obtuvo cultivo positivo en el 16,4% de las muestras que incluían la mezcla de sangre y heparina procedentes de la rama denominada arterial, y en el 9,9% de las procedentes de la rama denominada venosa ($p<0,001$). Entre las muestras de heparina se registraron 13 positivas (50%) de las

DISCUSIÓN

procedentes de la rama arterial, y 20 positivas (13,9%) de las obtenidas a través de la rama venosa ($p<0,001$).

En el estudio de Koch y cols encontraron mayor proporción de cultivos positivos en la rama arterial que en la rama venosa del CVCT [462]. Este fenómeno fue observado en los dos tipos de muestras que usaron para la realización de su investigación, cultivo del líquido de heparina y cepillado endoluminal. Capdevila y cols describieron un mayor número de UFC/ml en la rama arterial respecto de la venosa en los episodios de BRC descritos [353]. En el estudio de Aguinaga observaron también una mayor frecuencia en la colonización de la rama arterial respecto a la venosa. En este estudio el 81,8% de los episodios infecciosos diagnosticados durante la monitorización de los CVCT, la rama arterial fue la colonizada [110].

La causa del mayor porcentaje de colonización de la rama arterial se desconoce en la actualidad. A priori, ambas ramas deberían tener las mismas probabilidades de colonizarse en el tiempo, puesto que son manipuladas de igual modo y con la misma frecuencia [110, 462].

5.4. UTILIDAD DE LA VIGILANCIA DE LA COLONIZACIÓN ENDOLUMINAL EN LA PREVENCIÓN DE BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER

La población de pacientes en HD es singular y única, ya que requieren un AV permanente. Especialmente importantes son aquellos pacientes que dependen para este acceso de los catéteres, en los que la retirada y la nueva inserción de éste, pueden ocasionar serios problemas y complicaciones. Por ello es importante disponer de métodos diagnósticos que permitan detectar de manera temprana aquellos catéteres colonizados, y que eventualmente pudieran desarrollar BRC. El beneficio de esta

DISCUSIÓN

estrategia radica en una intervención dirigida y anticipada que impida el desarrollo de BRC. Por otra parte, también es importante el descartar la colonización del catéter, lo que evitaría, en algunos casos, una innecesaria retirada del catéter y los riesgos asociados a la inserción de un nuevo catéter.

En nuestro estudio se observó que todos los pacientes en HD que desarrollaron BRC habían presentado previamente al menos un cultivo positivo en las muestras de vigilancia por el mismo microorganismo. En nuestro estudio, globalmente los valores de sensibilidad, especificidad, VPP y VPN obtenidos cuando se consideraron todas las muestras endoluminales para predecir el desarrollo de BRC fueron: 95,2%, 86,2%, 83,3% y 96,2%, respectivamente. Para el cultivo de la mezcla de heparina y sangre de las ramas arterial y venosa se obtuvieron valores similares en sensibilidad (84,2% y 90,0%), y especificidad (96,3% y 96,3%) respectivamente. Los cultivos de la solución de sellado de heparina mostraron una elevada sensibilidad (100%), y especificidad (100%), pero hay que tener en cuenta que el número disponible de este tipo de muestras fue muy reducido.

En otros estudios, dependiendo del tipo de pacientes, catéteres y muestra seleccionada se obtuvieron distintos resultados. Guiot y cols en su estudio en pacientes hematológicos, concluyeron que 3 ó más muestras positivas consecutivas de la solución de heparina predecían el desarrollo ulterior de BRC en el 100% de los casos [461]. En su caso la heparina era retirada y analizada diariamente. Salzman y cols concluían en su estudio que la detección de muestras positivas de la luz del catéter, tomadas mediante torunda, fueron predictores o coincidentes del desarrollo de BRC en un 54% de los casos [470]. Freitas y cols registraron un 50,9% de los CVC temporales colonizados, y de éstos, el 89,2% obtuvieron cultivos de sangre positivos. Aunque en este caso, se realizaba venopunción, y realmente no podían anticiparse a la BRC [109]. Aguinaga

DISCUSIÓN

mostraba en su estudio como un 56,2% de los episodios de BRC diagnosticados estuvieron precedidos por muestras positivas de colonización [110].

Nuestros resultados indican que los cultivos de vigilancia del CVCT pueden ser utilizados para predecir el riesgo de desarrollar BRC. La información aportada por los cultivos de vigilancia podría ser utilizada para el cribado y selección de pacientes que podrían beneficiarse de medidas de intervención específicas. Así se evitaría la utilización generalizada de soluciones de sellado con antimicrobianos como uso profiláctico [52, 92, 344].

Las muestras de vigilancia de sangre más heparina empleadas en nuestro estudio, además de la información del resultado del cultivo, aportaron otro dato a tener en cuenta, el tiempo de positividad (puesto que se procesaron en botellas estándar de HC en el sistema automático de detección del laboratorio). El tiempo de positividad aporta información adicional, que puede ser usada en la valoración de la colonización. Las muestras de monitorización de la CEC, tuvieron un tiempo de positividad menor en el grupo que desarrolló BRC. En concreto, para *S. epidermidis* se obtuvo una media menor (14,7 horas) en el grupo de pacientes que desarrolló BRC, en comparación con la media obtenida en el grupo de pacientes que no desarrolló BRC (28,9 horas), sugiriendo que el inóculo en el interior del catéter, era mucho mayor en el primer grupo. En particular, un tiempo de positividad ≤ 14 horas tuvo un elevado VPP (96,1%) para BRC causadas por *S. epidermidis*. En general, los cultivos endoluminales positivos para *S. epidermidis* con un bajo tiempo de positividad fueron predictivos del desarrollo de una inminente BRC. Un tiempo de positividad más elevado quizás indique una fase temprana, inicial de colonización endoluminal, sin bacteriemia inminente o con baja probabilidad de BRC. Por lo tanto, la positividad de los cultivos de las muestras de

vigilancia y el tiempo de positividad de dichas muestras, son de gran utilidad en la predicción del desarrollo de BRC en los pacientes en HD con CVct.

5.4.1. SOLUCIONES DE SELLADO ANTIBIÓTICAS

Existen estudios que muestran la eficacia de la profilaxis antibiótica mediante soluciones de sellado con antimicrobianos en los catéteres para prevenir el desarrollo de BRC [89, 172, 356, 378, 402-420, 425].

El propósito del sellado de los catéteres con antimicrobianos es esterilizar y mantener estéril el interior de dicho catéter. El sellado antibiótico ha demostrado reducir la tasa de BRC, disminuyendo la morbi-mortalidad asociada, la incidencia de hospitalización y los costes asociados a ella y aumentando la longevidad del catéter [172, 372, 404, 407-409, 415, 418]. La colonización endoluminal es la principal fuente de BRC en los catéteres de larga duración, como es el caso de los pacientes en HD [192-194]. En ellos, esta técnica podría ser muy beneficiosa, puesto que requieren AV de larga duración.

A pesar de ello la implantación sistemática de estos agentes en la práctica clínica se encuentra limitada por diversas razones. El uso de antimicrobianos en el sellado antibiótico no está exento de riesgo, bien a corto plazo, por la posibilidad de desarrollo de alergias, sensibilización, reacciones adversas y toxicidad, como a largo plazo en el favorecimiento del desarrollo de resistencias, así como el coste asociado que conllevan [216, 372, 412, 532]. Además hay que tener en cuenta, que en los estudios publicados, normalmente el tamaño de muestra suele ser pequeño y que pocos estudios o ensayos clínicos incluyen monitorización de resistencia a antibióticos, y aquellos que lo hacen, el periodo de observación es demasiado corto, necesitando periodos más prolongados

DISCUSIÓN

para evaluar el desarrollo de dicha resistencia, que emerge en años, más que en meses, no pudiendo descartar el comienzo de efectos adversos o resistencia antimicrobiana con un uso más prolongado [403, 410, 412, 427, 428].

Como se ha mencionado en el párrafo anterior no debemos olvidar el riesgo de desarrollo de toxicidad relacionada con el uso de antimicrobianos. En el caso particular del uso de aminoglucósidos, se han registrado casos de ototoxicidad [415, 423, 429, 430]. Si bien es cierto que estos efectos adversos parecen disminuir o desaparecer cuando se usan concentraciones inferiores [408, 418]. Se ha documentado también mayor tasa de trombosis, arritmias, incluso muertes y, en caso de infusión rápida de soluciones concentradas, hipocalcemia [52, 344, 414, 422, 533]. El posible desarrollo de resistencia antimicrobiana y emergencia de aislados resistentes a ciertos antimicrobianos es un factor importante a tener en cuenta. Se produciría la pérdida de eficacia frente a dichos antimicrobianos y selección de microorganismos resistentes [216, 378, 426]. En el estudio realizado por Abbas en el 2009 [403], se observó que el sellado con antibióticos se asoció a un cambio en el patrón de sensibilidad en los aislados bacterianos. En este estudio usaron heparina y gentamicina, que además fue más efectivo en la prevención de gram negativos que de gram positivos, lo cual, dejaría sin cubrir el porcentaje más voluminoso de causa de BRC en la población en HD que son los microorganismos gram positivos. Además, la tendencia observada en este estudio a la disminución de sensibilidad antibiótica en los ECN, fue observada también en otros estudios [526, 534] e incluso en *S. aureus* [404].

En nuestro estudio, para sellar el catéter en los periodos interdiálisis se usó sólo heparina. No se modificaron, con la puesta en marcha del estudio, las rutinas, técnicas o estrategias de trabajo de la Unidad de HD. En dicha Unidad, a fecha del comienzo del estudio aunque existían algunas publicaciones que reflejaban el beneficio de la

DISCUSIÓN

utilización del sellado antibiótico de manera universal, otros estudios o guías lo cuestionaban, al igual que actualmente. Estas últimas apuntan que sería más prudente aguardar a estudios aleatorizados o investigaciones que comparen y evalúen diferentes sellados en términos de eficacia, coste y resistencia y apoyen su uso [47, 378-380, 412, 415, 535, 536], sobre todo cuando se trata de catéteres de larga duración [216]. Es bien conocida la importancia en la prevención del desarrollo de resistencias. Los pacientes en HD son una población especialmente importante en esta materia, puesto que han estado involucrados en la aparición y diseminación de patógenos resistentes [431-436].

Dos de las cuatro estrategias principales para la prevención de las resistencias son la prevención de la infección y un efectivo diagnóstico y tratamiento de dicha infección [427]. Nuestro estudio de monitorización demostró que los procedimientos y técnicas implementadas fueron capaces de detectar la colonización endoluminal del catéter, e identificar y conocer la sensibilidad antimicrobiana de los microorganismos implicados. Por lo que en el caso de instaurarse la infección, el tratamiento será apropiado, dirigido y podría ser administrado antes de la aparición de las manifestaciones clínicas, incluso sería posible anticiparse al desarrollo de BRC. Por lo tanto, la rapidez de la instauración, unida a la elección del antimicrobiano adecuado al microorganismo o microorganismos en concreto aislados, supone un aumento significativo en la probabilidad de resolución óptima de la infección sin necesidad de la retirada del catéter.

En nuestro estudio, de un total de 64 CVCT monitorizados, fue necesario retirar 3 a causa de BRC, lo que supone un 4,7% de retiradas de CVCT a causa de infección. Es muy probable que si se hubiera intervenido al inicio de la colonización del CVCT, por ejemplo mediante el sellado con antibióticos con actividad demostrada *in vitro* hacia esos microorganismos, la tasa de BRC podría haber sido inferior. Cuanto antes se actúe,

DISCUSIÓN

la *biocapa* será más inmadura, conteniendo menor número de microorganismos y por lo tanto mayor posibilidad de éxito en el tratamiento.

El uso de los antimicrobianos sabiamente es otra de las cuatro principales estrategias en la prevención de las resistencias [427]. Por lo tanto, no se debe caer en el abuso del uso de soluciones de sellado antimicrobianas o su uso indiscriminado, ya que podría aumentar las tasas de resistencia. Por ello no se recomienda su uso universal, puesto que podría perderse la actividad de los antimicrobianos y seleccionar patógenos resistentes, sin olvidar la posibilidad de efectos colaterales en el paciente [9, 21, 52, 216, 344, 378, 381, 408, 414, 415, 418, 422, 423, 426, 429, 430].

Con toda la información disponible, lo más apropiado podría ser monitorizar a los pacientes, y en aquellos que se detectara colonización del CVCt, identificar el microorganismo causante y su patrón de sensibilidad. Si se deja evolucionar la colonización muy probablemente se desarrolle BRC. De esta forma se podría actuar prontamente y administrar el antibiótico adecuado, solo en los casos necesarios, sin necesidad de usar antibióticos de amplio espectro, que favorecerían la selección de cepas resistentes.

5.5. STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS: UN PATÓGENO FRECUENTEMENTE IMPLICADO EN LA BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER EN PACIENTES EN HEMODIÁLISIS

Los estafilococos son los principales agentes causantes de BRC en los pacientes sometidos a HD, siendo los ECN, y en concreto *S. epidermidis* el microorganismo más frecuentemente aislado [37, 72, 74, 93, 99, 104, 105, 129, 165, 171, 174-177]. Además, es interesante señalar que las BRC en estos pacientes a menudo se manifiestan con pocos o ningún signo y/o síntoma de infección [174, 175, 177, 185]. Por lo tanto, la colonización del catéter, puede establecerse e ir evolucionando hasta que el paciente desarrolle BRC. En este punto la presentación clínica puede oscilar desde ser asintomática hasta manifestar síntomas y signos claros de infección sistémica.

5.5.1. CARACTERIZACIÓN GENOTÍPICA

En los aislamientos de *S. epidermidis* se llevó a cabo la técnica de ECP con dos finalidades. La primera para determinar la relación genética de los aislamientos de *S. epidermidis* en las muestras de vigilancia de la colonización endoluminal del catéter y en las de hemocultivos de cada paciente que desarrolló BRC. La segunda, para investigar si hubo una diseminación clonal de *S. epidermidis* entre los pacientes en la unidad de HD.

Los resultados del análisis de ECP confirmaron que los aislamientos de *S. epidermidis* obtenidos en cada episodio de BRC de cada paciente presentaban el mismo genotipo, tanto en las muestras de colonización como en las muestras de los hemocultivos. Además este genotipo fue el mismo en los diferentes episodios de cada

DISCUSIÓN

paciente, es decir, sobre el mismo CVCT, en los diferentes episodios, siempre se aisló el mismo *S. epidermidis*, el mismo que se encontró en los HC.

En el estudio genético de comparación de la relación clonal entre los *S. epidermidis* de los diferentes pacientes, ninguna cepa resultó estar genéticamente relacionada con la de otro paciente, por lo tanto, los episodios de BRC se desencadenaron por cepas sin relación genética, y no existió un clon predominante que hubiera dado lugar a estos episodios. En este estudio no se produjo diseminación de aislados bacterianos entre pacientes de HD, situación ampliamente descrita en la literatura y que causa en ocasiones situaciones de alarma y dificultades en el manejo y tratamiento de los pacientes. En el mismo hospital, y anteriormente a este estudio, entre 2005 y 2007, se produjo una diseminación clonal de *S. haemolyticus*, produciendo un brote nosocomial que afectó a 15 pacientes ingresados en UCI [537]. El 73% de las infecciones fueron BRC y el 93% habían recibido múltiples tratamientos antibióticos, incluyendo linezolid en 11 casos (73%). Este clon persistió y se diseminó en nuestro hospital causando infecciones principalmente entre pacientes ingresados en UCI durante al menos 18 meses. Este es un ejemplo de la importancia de los aislamientos de ECN multirresistentes como causa de BRC, y la necesidad de mantener una vigilancia activa para evitar la aparición de brotes intrahospitalarios.

5.5.2. FACTORES IMPLICADOS EN LA PATOGENICIDAD E INVASIVIDAD DE *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*

Tanto en el grupo de pacientes que desarrolló BRC, como en el que no lo hizo, se aislaron ECN. Todos los ECN aislados en los episodios de colonización y BRC fueron identificados como *S. epidermidis*. En el grupo que desarrolló BRC la colonización fue persistente y evolucionó hasta el desarrollo de la infección. En el grupo

DISCUSIÓN

que no desarrolló BRC, la colonización fue transitoria, desapareciendo sin necesidad de tratamiento antibiótico. Se pensó por lo tanto, que podría existir algún factor que influyera en esta diferencia de comportamiento entre unas cepas y otras, y favoreciera la persistencia en el biomaterial.

El importante papel del operón *ica*ADBC, la síntesis de PAI, y la formación de *biocapa* en la patogénesis de *S. epidermidis*, en las infecciones asociadas a biomateriales, ha sido documentado en modelos animales [266-268]. La expresión del operón *ica*ADBC es controlada por diversos elementos reguladores [242, 538, 539], entre ellos el gen *icaR* [241], así como las secuencias de inserción IS256 e IS257 [228, 540].

El locus *ica* [230, 255], y más recientemente la secuencia de inserción IS256 [230, 293] han sido investigados en diversos estudios, y, propuestos como marcadores en la discriminación entre cepas comensales y cepas invasivas. Incluso la coexpresión de ambos marcadores se ha propuesto como indicador capaz de identificar cepas estafilocócicas clínicamente relevantes, más difíciles de erradicar a causa de la protección natural de la *biocapa* [235, 541], con gran adaptabilidad, e incluso más importante, con un gran potencial de resistencia frente a los antimicrobianos [542]. La presencia de factores de virulencia tales como la producción de polisacárido capsular, podría ser útil para diferenciar las cepas invasivas de las comensales. La producción de polisacárido por ECN está relacionada con su habilidad para adherirse a biomateriales y ése es uno de sus principales factores de virulencia [253]. Incluso existen estudios que defienden que la detección de la producción de biopelícula por parte de estos microorganismos, es decisivo para un buen manejo de las infecciones en las que se encuentran implicados [543].

DISCUSIÓN

Por ello analizamos en los aislamientos de *S. epidermidis* la presencia de los genes *icaA*, *icaD* y la secuencia de inserción IS256. Además se estudió la producción fenotípica de *biocapa* mediante el medio de cultivo Rojo Congo, y también el patrón de sensibilidad antibiótica. Se estudiaron estos factores, en los aislados de *S. epidermidis*, para clarificar si alguno de ellos podría haber facilitado la colonización del catéter, su persistencia, y, posterior desarrollo de BRC, así como la influencia de los citados genes en la producción de *biocapa*, la sensibilidad antibiótica y la relación entre ellas.

Como todos los aislados de *S. epidermidis* pertenecientes a cada paciente que desarrolló BRC tenían idéntico patrón genotípico, se tuvo en cuenta un aislado de cada paciente, por lo tanto 12 aislados. Se analizaron además, 54 cepas de *S. epidermidis* de pacientes que no habían desarrollado BRC, así como 30 cepas *S. epidermidis* de un grupo control de voluntarios sanos sin relación con el hospital (cepas comunitarias).

La distribución de los aislamientos siguió un patrón similar en cuanto a la presencia de los genes estudiados (*icaA*, *icaD* e IS256) y resistencia antibiótica. Tras el análisis se diferenciaron dos grandes grupos: las cepas hospitalarias, donde se incluían tanto las cepas de *S. epidermidis* que dieron lugar a BRC como las que se aislaron en las muestras de monitorización de la colonización, en los pacientes que no desarrollaron BRC, y por otro lado, las cepas comunitarias, las que provenían de los voluntarios sanos.

Las cepas hospitalarias presentaron un mayor porcentaje de posesión de los genes estudiados y mayor resistencia antibiótica que las cepas comunitarias. Hubo en general mayor resistencia antibiótica y mayor porcentaje de posesión de los genes citados, en el grupo de los aislados pertenecientes al grupo de las BRC, que en el grupo de las No-BRC, pero esta diferencia no fue significativa. La resistencia a tres o más grupos de antimicrobianos (multirresistencia) fue del 92% en el grupo de las BRC y del

DISCUSIÓN

67% en el grupo de las no BRC, no siendo tampoco significativa esta diferencia, pero sí hubo diferencia en la comparación entre los dos grupos (cepas hospitalarias) y el grupo de las cepas comunitarias, que registraron un 7% de multirresistencia antimicrobiana.

La resistencia a meticilina, se registró en un 83% entre las cepas hospitalarias productoras de BRC, un 65% entre las hospitalarias no productoras de BRC y un 3% entre las cepas comunitarias provenientes de voluntarios sanos. Eritromicina y clindamicina, registraron el mismo comportamiento que el resto de antimicrobianos, pero no se observó diferencia significativa en los porcentajes de resistencia entre las cepas hospitalarias y las comunitarias. Rifampicina, incluso registró mayor porcentaje de resistencia entre los aislados del grupo de las No-BRC que en el grupo de las BRC.

Son varios los estudios donde investigan la presencia de los genes involucrados en la síntesis de este polisacárido, como marcadores de virulencia, útiles para diferenciar entre cepas invasivas o puramente comensales de *S. epidermidis*, tanto en cepas correspondientes a medio hospitalario como en comparación con las cepas en voluntarios sanos. Las conclusiones de los diferentes estudios son diversas. Muchos documentan la validez de estos marcadores para diferenciar cepas invasivas de simplemente comensales. Ziebuhr y cols demostraron una diferencia significativa en la presencia de genes *icaAB* entre las cepas de HC (85%) y las cepas saprofitas de *S. epidermidis* procedentes de voluntarios sanos (6%) [254]. Frebourg y cols también encontraron utilidad en el uso de estos genes como marcadores entre cepas invasivas y contaminantes de *S. epidermidis*. En su estudio los porcentajes de posesión de los genes *icaAB* fueron del 76,9% en aislamientos causantes de sepsis, del 68,2% en los aislamientos que colonizaron significativamente dispositivos médicos, del 28,2% en los aislamientos considerados contaminantes y del 37,5% entre las cepas saprofitas procedentes de voluntarios sanos [255]. El-Mahallawy y cols apuntaron en su estudio,

DISCUSIÓN

llevado a cabo en pacientes pediátricos, que los genes *icaA* e *icaD* pueden ser usados como marcadores de virulencia entre las cepas de ECN y *S. aureus* [544]. Touati y cols encontraron diferencias entre las cepas de *S. epidermidis* causantes de infecciones relacionadas con el catéter y las simplemente comensales, tanto en porcentajes de posesión de los genes *icaA*DBC (82,1% *versus* 35,7%), y resistencia a oxacilina (67,8% *versus* 35,7%) [545]. Kotiskaya y cols también encontraron diferencia significativa en la presencia del operón *ica* entre cepas clínicas y comensales [280]. Galdbart y cols concluyeron en su estudio que el operón *ica* fue capaz de diferenciar entre las cepas de *S. epidermidis* comensales y las causantes de infecciones protésicas [258]. En otros estudios, en los se encuentran implicados aislados de *S. epidermidis* en infecciones de BRC encontraron una prevalencia de los genes *ica* entre los aislados clínicos de un porcentaje que oscilaba entre el 45% y el 81,5% [244, 255, 293, 546]. La prevalencia hallada de IS256 entre los aislados clínicos de *S. epidermidis* en infecciones asociadas a catéteres ha sido elevada en algunos estudios. Gu y cols hallaron un 85% de prevalencia de la secuencia de inserción IS256 entre las cepas invasivas analizadas (en concreto las halladas en muestras de HC portaban en un 93% dicha secuencia) respecto a las comensales (16%) siendo esta diferencia significativa [293]. Petrelli y cols encontraron entre los aislados de infecciones asociadas a catéteres una elevada frecuencia de posesión de IS256 [244]. Koskela y cols encontraron en aislados de *S. epidermidis* de pacientes con infecciones protésicas, que había diferencia significativa en la prevalencia de la secuencia de inserción IS256 entre cepas de aislados clínicos y comensales (81% *versus* 4%), concluyendo que IS256 puede tener un valor superior respecto al uso como marcador de invasividad en *S. epidermidis* que el operón *ica*, ya que esta secuencia se encuentra en mayor proporción entre los aislados clínicos de infecciones protésicas, y concluyeron que IS256 se podía usar como marcador de invasividad [276]. Los

DISCUSIÓN

resultados de otros estudios, respecto a la posesión de IS256, en *S. epidermidis*, alcanzan en general también porcentajes elevados, 87% en aislamientos de HC, 94% en aislamientos causantes de BRC en pacientes trasplantados de médula ósea y 67% en neonatos en aislamientos procedentes de HC, con porcentajes en cepas comensales del 4%, 0% y 0% respectivamente [256, 273, 280]. Rohde y cols al igual que Kozitskaya y cols concluyeron que la secuencia de inserción IS256 se puede usar como marcador de cepas hospitalarias, y que todos los *S. epidermidis* seleccionados por el ambiente hospitalario tienen la capacidad de producir infección sobre dispositivos médicos [256, 280].

Por otra parte, otros estudios no encuentran utilidad en usar estos elementos genéticos como marcadores de virulencia. Koskela y cols no encontraron diferencia significativa entre la prevalencia de los genes del operón *ica* entre cepas comensales (33%) y las provenientes de aislados clínicos de *S. epidermidis* de pacientes con infecciones protésicas (50%) y concluyeron que el operón *ica* no era de utilidad como marcador de invasividad en estos pacientes [276]. Klingenberg y cols observaron en infecciones causadas por ECN en neonatos, que no existía diferencia entre la producción fenotípica de *biocapa* o los determinantes genéticos implicados en su formación entre aislamientos invasivos y contaminantes [277]. De Silva y cols no encontraron en su estudio, llevado a cabo en neonatos, diferencias significativas entre los porcentajes de presencia del operón *ica*, en las cepas halladas en HC en comparación con las halladas en piel [243]. Rohde y cols en su estudio en pacientes con infecciones protésicas causadas por *S. epidermidis*, concluyeron que el operón *ica* no tenía utilidad como marcador. También apuntaron que los genes *ica* están presentes en casi todos los aislados de *S. aureus* y muy extendidos entre los aislados clínicos de *S. epidermidis*, y por lo tanto son genes habituales en las cepas hospitalarias [259].

DISCUSIÓN

En nuestro estudio, a diferencia de la resistencia antibiótica y la posesión de los citados genes, la producción fenotípica de *biocapa* no registró diferencias significativas entre las cepas hospitalarias y las cepas comunitarias. Los porcentajes observados fueron similares en ambos grupos de aislados. En las cepas hospitalarias se registraron un 50% de aislados productores de *biocapa* entre las cepas correspondientes al grupo de las BRC y un 59% en las correspondientes a las No-BRC. Las cepas comunitarias registraron un 47% de producción fenotípica de *biocapa*. Probablemente, la formación de la biocapa es una característica de la cepa, y el ambiente nosocomial no influya o seleccione este tipo de cepas. Existen estudios que reconocen la formación de biocapa como marcador de virulencia en las cepas de *S. epidermidis*. Végh y cols encontraron entre las cepas clínicas, en comparación con las consideradas contaminantes, una proporción de producción de *biocapa* tres veces superior [547]. Touati y cols hallaron diferencia en la producción de *biocapa* (64,2% versus 28,5%) entre las de cepas de *S. epidermidis* causantes de infecciones relacionadas con el catéter y las comensales [545]. Sin embargo, otros estudios, no encuentran utilidad en este posible marcador para diferenciar las cepas invasivas de las comensales. Klingenberg y cols no encontraron diferencia en infecciones causadas por ECN en neonatos, en la producción fenotípica de *biocapa* entre aislamientos invasivos y contaminantes [277]. De Silva y cols no hallaron diferencias significativas respecto a la formación de *biocapa* mediante el medio Rojo Congo. Sin embargo, sí fue mayor cuantitativamente la producción de *biocapa* entre las cepas de *S. epidermidis* aisladas en los HC de los neonatos que en las muestras procedentes de piel [243]. Gu y cols no encontraron utilidad en utilizar la producción de PAI como marcador de invasividad entre aislados de *S. epidermidis*, puesto que no hallaron diferencias entre los aislados cénicos y los comensales [293].

DISCUSIÓN

Por otra parte, los resultados de nuestro estudio no demostraron asociación entre la presencia de los genes *icaA* e *icaD* con la detección fenotípica de la formación de *biocapa* mediante el medio Rojo Congo. Gerke y cols documentaron en 1998 que la coexpresión de *icaA* junto con *icaD* aumentaba la actividad N-acetilglucosaminiltransferasa, por ello, en muchos estudios se investiga la posesión de ambos genes en relación con la producción de *biocapa* [240]. El-Mahallawy y cols documentaron la existencia de una clara correlación entre la posesión de los genes *icaA* e *icaD* y la formación de *biocapa*, detectada mediante el método de Rojo Congo, en cepas de ECN y *S. aureus* en pacientes pediátricos [544]. Touati y cols encontraron en cepas de *S. epidermidis* causantes de infecciones relacionadas con el catéter que el 64% de las cepas eran productoras de *biocapa*, y de éstas, el 79% eran *ica* positivas [545]. En el estudio de Petrelli y cols en el 89% de los aislados implicados en infecciones asociadas a catéteres se confirmó la correlación entre la posesión del operón *ica* y la formación de *biocapa* mediante el medio Rojo Congo [244]. Arciola y cols [548] detectaron en un 49% de los aislados de *S. epidermidis* la posesión simultánea de los genes *icaA* e *icaD* y la producción de *biocapa* (mediante medio de cultivo Rojo Congo), porcentaje muy parecido al 46% del estudio de Muller y cols [549]. Arciola y cols en un estudio posterior encontraron que el 61% de los aislados en catéteres eran *icaA* e *icaD* positivos y producían *biocapa* [550]. Esta autora defiende el uso de los genes *ica* como marcadores de virulencia en las infecciones por estafilococos en catéteres, y apunta a que la detección de los genes *ica* mediante PCR podría ser un método útil en la identificación de *S. epidermidis* que formaran *biocapa* en las infecciones relacionadas con el catéter.

Aunque la formación de *biocapa* es reconocido como el principal factor de virulencia en las infecciones causadas por *S. epidermidis*, especialmente en las

DISCUSIÓN

relacionadas con dispositivos médicos, y, existen publicaciones en las que expresa la importancia del operón *ica* en dichas infecciones [243, 254, 255, 258, 548, 551], existe evidencia de su producción sin la presencia del citado operón *ica*, implicando a otros componentes [228, 245, 259, 274-277, 285, 552]. Hay que añadir además, que se ha documentado también la formación de *biocapa* sin implicación del PAI. Por lo tanto, si la *biocapa* es capaz de formarse mediante otros mecanismos, es posible que estos genes pierdan su utilidad como marcadores de virulencia. Son numerosos estudios los que han intentado comprender cuál es la explicación o mecanismo de la modulación en la formación de la *biocapa*. Chaieb y cols observaron en aislados de pacientes en diálisis, que la capacidad de *S. epidermidis* para producir *biocapa* no estaba asociada con la presencia de los genes *icaA* e *icaD* [275]. En el estudio de Rohde y cols se hallaron un 27% de los aislados de *S. epidermidis biocapa* positivos, que producían dicha *biocapa* independientemente del PAI [259]. O'Gara y cols concluyeron en su estudio que existía evidencia de mecanismo de formación de *biocapa* independiente del operón *ica*, tanto en *S. aureus* como *S. epidermidis* [553]. Fitzpatrick y cols evidenciaron que existía formación de *biocapa* independiente del operón *ica*. La incongruencia entre la formación de *biocapa* y la posesión de los genes *ica* ha sido publicada en más estudios [285]. Cafiso y cols no encontraron una relación directa entre la posesión del operón completo y la formación de *biocapa* en *S. epidermidis*, aunque sí parecía haber mayor correlación cuando se coexpresaban *icaA* e *icaD* [245]. Basado en sus resultados, concluyeron que estas cepas representan una subpoblación emergente de aislados clínicos de *S. epidermidis*, que se seleccionan mediante la presión antibiótica del ambiente nosocomial y otorga una ventaja en cuanto a la supervivencia en el huésped. En algunos estudios se ha investigado la relación entre la presencia de la secuencia de inserción IS256 y la modulación en la producción de *biocapa*. Arciola y cols [272] no

DISCUSIÓN

encontraron en el locus *ica* la secuencia de inserción IS256, cuando ésta se encontraba en el genoma, en cepas *biocapa* positivas, detectada mediante el medio Rojo Congo. Además, en algunas cepas *ica* positivas que eran *biocapa* negativas (testadas mediante el medio Rojo Congo), IS256 no se encontró nunca en el locus *ica*. Por ello, Arciola y cols concluyeron que tanto la inserción como la escisión de la secuencia de inserción IS256 en el locus *ica*, no parecía ser el mecanismo natural de modulación en la producción de *biocapa*, es decir, que debían estar implicados otros mecanismos en la variación de la producción de dicha *biocapa*. Bradfors y cols [273] analizaron la presencia de los genes *icaA*, *icaC*, *icaD*, y el número de copias de IS256, y no encontraron evidencia de inserción de IS256 en los genes *ica* como mecanismo de variación de fase. Sus hallazgos sugieren, que tanto las cepas contaminantes e invasivas en el ambiente hospitalario son capaces de causar sepsis en huéspedes comprometidos, y que existen otros mecanismos, a parte de la inserción de IS256 en los genes *ica*, que son capaces de causar variación de fase. Handke y cols [554] concluyeron en su estudio que la mutación y la regulación transcripcional son los mecanismos principales que gobiernan la variación fenotípica de formación de *biocapa* en los *S. epidermidis* que no poseen IS256. Ziebuhr y cols [228] publicaron como el 30% de las variantes que perdían la capacidad de formación de *biocapa*, era debido a la inactivación, bien del gen *icaA* o bien por *icaC*, a causa de la inserción de IS256, pero no el restante 70%, que no era debido a este mecanismo. Rohde y cols [256] investigaron en cepas de *S. epidermidis* de pacientes sometidos a trasplante de médula los genes *ica* ADBC, IS256 y la formación de *biocapa*. Los aislados se dividieron en tres grupos. El primer grupo estaba formado por 41 cepas que causaron 16 episodios de BRC en 16 pacientes trasplantados, denominadas cepas invasivas. De éstas, tras la realización de ECP, se vio que 10 eran clonalmente independientes y 6 pertenecían a dos clones (3 aislamientos a

DISCUSIÓN

un clon y los tres restantes a otro clon). El siguiente grupo, 25 cepas clonalmente independientes, comensales, aisladas de pacientes trasplantados, y el último grupo 15 cepas comensales aisladas en individuos sanos, también clonalmente independientes. En este estudio, se evidenció, que en las cepas hospitalarias la proporción de los genes estudiados era muy similar, ya fueran cepas invasivas o comensales. El gen *icaA* se aisló en un 94% de las cepas invasivas, en un 80% de las cepas comensales hospitalarias, y en un 13% de las cepas comensales provenientes de individuos sanos. Para IS256, los porcentajes fueron de 64%, 76% y 0%, respectivamente. Estos autores encontraron que el porcentaje de las cepas *ica* positivas *biocapa* negativa era mayor entre las cepas comensales hospitalarias que en las cepas invasivas, 44% *versus* 20%. Al igual que da Silva y cols sugerían en su estudio que debía existir algún mecanismo adicional implicado en la producción de *biocapa* [243].

Nuestro estudio demostró asociación entre la presencia de los genes *icaA*, *icaD* e IS256 con multirresistencia en las cepas de *S. epidermidis*, pero la producción de *biocapa* no se relacionó con el aumento en la resistencia antimicrobiana de las cepas analizadas. En otros estudios se ha documentado también la relación de estos elementos genéticos con la disminución en la sensibilidad antibiótica, e incluso también la producción de *biocapa*. Sin embargo, existen autores que discrepan respecto a la consideración de estos genes y/o producción de *biocapa* como marcadores de invasividad y/o su asociación con multirresistencia. Kotiskaya y cols encontraron en su estudio en cepas de *S. epidermidis* correlación entre la formación de *biocapa*, presencia de la secuencia de inserción IS256 y multirresistencia, con la presencia del operón *ica*. Estudiaron estos elementos genéticos en cepas de *S. epidermidis*. De las cepas *ica* positivas en HC e infecciones del tracto urinario, el 88% y 85%, portaban además IS256 respectivamente, en contraposición con el 15% hallado en las cepas comensales.

DISCUSIÓN

Encontraron una elevada proporción de aislados clínicos con resistencia a oxacilina y gentamicina que iban acompañados de la presencia del operón *ica*. Además concluyeron que IS256 es un elemento característico en el genoma de los aislados nosocomiales multirresistentes de *S. epidermidis*, que podría además estar envuelto en la flexibilidad y adaptación del genoma de los aislados clínicos [280]. Montanaro y cols hallaron en su estudio una asociación entre la posesión de los genes *icaA* e *icaD* e IS256 con el aumento de la resistencia antimicrobiana entre las cepas de *S. epidermidis* estudiadas en infecciones protésicas. Los aislamientos *ica* positivos mostraron en un 50% de los casos resistencia a más de 5 de los 9 antimicrobianos estudiados, mientras que entre los aislados *ica* negativos, tan sólo el 3% fue resistente a 4 antimicrobianos. Las cepas que portaban IS256 también presentaron asociación con multirresistencia, 56% *versus* 0% [282]. Arciola y cols también encontraron asociación entre las cepas de *S. epidermidis* causantes de infecciones protésicas, productoras de *biocapa* (detectada mediante el medio de cultivo Rojo Congo), y mayor prevalencia de resistencia antibiótica, especialmente pronunciada en el caso de los aminoglucósidos, sulfametoxazol y ciprofloxacino [279]. Koskela y cols en aislados de *S. epidermidis* de pacientes con infecciones protésicas, Además de hallar con mayor frecuencia IS256 entre los aislados clínicos, la posesión de dicha secuencia estuvo asociada con multirresistencia [276]. Klingenberg y cols, encontraron que las cepas de *S. epidermidis* productoras de *biocapa* eran más resistentes a los antimicrobianos [277]. El-Mahallawy y cols señalaron que la vancomicina fue significativamente más prescrita en los episodios *ica* positivos, en su estudio realizado en pacientes pediátricos [544]. Cafiso y cols documentaron mayor resistencia en cepas de *S. epidermidis* *ica* positivas [245]. Sin embargo, en el estudio de Qin y cols [286] evidenciaron que las cepas *biocapa* positivas *ica* negativas eran más resistentes.

DISCUSIÓN

Vandecasteele y cols [555] concluyeron en su estudio que los genes *ica* estaban implicados en la colonización inicial, pero no en la persistencia de ésta, ya que operón *ica* se expresaba intensamente durante el establecimiento de la colonización, pero después su expresión decrecía. Los resultados observados en nuestro estudio, podrían ser compatibles con los obtenidos en la investigación de Vandecasteele y cols citada en este párrafo, ya que las cepas hospitalarias halladas durante nuestro estudio, ya fueran invasivas o no, portaron un porcentaje muy similar de estos genes. Por lo tanto, algún mecanismo adicional debe estar implicado en la persistencia de la colonización. Incluso en otros estudios, los resultados obtenidos no consideran necesaria la posesión de estos genes, ni si quiera para el establecimiento de la infección en los ECN [278]. La resistencia a meticilina, también ha sido evaluada en muchos estudios, mediante la detección del gen *mecA* en *S. epidermidis*, y se ha demostrado que muy frecuentemente está presente entre los aislados nosocomiales [230, 255, 282]. Al igual que en nuestro estudio, el porcentaje registrado entre las cepas hospitalarias fue muy superior al registrado en las cepas comunitarias.

En resumen, nuestros resultados indican que la presencia de los genes *icaA*, *icaD* y la secuencia de inserción IS256 son marcadores que se encuentran instaurados entre las cepas de *S. epidermidis* propias del ambiente hospitalario, con capacidad patogénica de colonizar la superficie endoluminal de los catéteres y de producir infecciones bacteriémicas relacionadas con estos dispositivos vasculares. Sin embargo, en nuestro estudio no se encontró evidencia de que estos genes pudieran usarse como marcadores de invasividad, puesto que se encuentran presentes en todas las cepas nosocomiales, ya sean invasivas o no. Respecto a la producción de *biocapa*, no se halló diferencia en la capacidad de producción entre las cepas hospitalarias y comunitarias, no siendo una característica tan sólo de las cepas hospitalarias. Además, no encontramos

DISCUSIÓN

relación entre la detección de la formación de *biocapa* y posesión de los genes *icaA* e *icaD*, ni tampoco con una mayor invasividad de los aislamientos. Por lo tanto, es posible que las cepas productoras de *biocapa*, sean capaces de hacerlo por mecanismos independientes de los genes *ica* citados. Respecto a los genes analizados, así como la producción de *biocapa* y su posible relación con un aumento de resistencia antimicrobiana, nuestro estudio sí demostró asociación de estos elementos genéticos con la multirresistencia a los antimicrobianos, pero no con la producción de la *biocapa*.

5.6. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Aunque el diseño y el tiempo de seguimiento del estudio son adecuados, y los resultados obtenidos son convincentes, el presente estudio presenta algunas limitaciones que se señalan a continuación.

Respecto a la selección y características de la cohorte de pacientes en HD a través de CVCT se consiguió reclutar a 51 pacientes. Hubiera sido deseable incluir a un número mayor de pacientes, sin embargo, las dificultades en que cumplieran los criterios de inclusión y la realización del estudio impidieron reclutar más pacientes. Otros estudios similares han mostrado también la dificultad de reclutar un elevado número de pacientes [178, 249]. En este sentido, nuestro estudio incluyó más pacientes que la mayoría de los estudios publicados.

La situación ideal hubiera sido incluir los catéteres para monitorización en el momento de su inserción. Esto solo fue posible en 13 catéteres. Por lo tanto, la monitorización del CVCT comenzó en la mayoría de los casos cuando éste ya estaba insertado y en uso. Durante ese tiempo, no se obtuvo información acerca de la colonización endoluminal del CVCT. Esto puede haber influido en el cálculo del tiempo de positividad desde la inserción hasta la colonización. Las dificultades en reclutar

DISCUSIÓN

pacientes con catéteres recién insertados nos llevó a incluir también pacientes con catéteres ya insertados para así tener un número suficiente de pacientes y catéteres.

En la población de pacientes que no desarrolló BRC no se tomaron HC centrales y periféricos para evidenciar la ausencia de bacteriemia. Así se diseñó el estudio, puesto no se quiso comprometer en ningún momento ni someter a más agresiones el lecho vascular de los pacientes incluidos en el estudio. Esto tuvo como consecuencia que durante el estudio, de los 37 pacientes asintomáticos se demostró la esterilidad de los HC en 16 pacientes.

En el diseño original del estudio se pretendía evaluar tanto la validez del cultivo de la solución de sellado de heparina como la mezcla de sangre y heparina, para detectar la colonización endoluminal del CVCT. Sin embargo, debido a las dificultades técnicas en la obtención de la solución de heparina pura, es decir, sin sangre, sólo se pudo incluir un pequeño número de este tipo de muestras. Aunque el cultivo de la solución de heparina mostró una elevada sensibilidad y especificidad, el reducido de este tipo de muestras hace que haya que ser cautos en la interpretación de estos resultados. Más investigaciones serían necesarias para la validación de este tipo de muestras.

Respecto a las técnicas de cultivo empleadas, hay que tener en cuenta que están sujetas a diversas limitaciones. Las características intrínsecas y los umbrales de detección de microorganismos de estas técnicas condicionan los diferentes valores de sensibilidad y especificidad [88, 203-207].

Aunque se sabe que la colonización del catéter es precursor del desarrollo de BRC, el tiempo que tarda en desarrollarse ésta no se ha esclarecido aún [459]. Como limitación en este punto en nuestro estudio, encontramos que en el caso de microorganismos más virulentos, como el caso de gram negativos, se tomaron HC y nuevas muestras de vigilancia de la CEC en la siguiente sesión a la que el paciente

DISCUSIÓN

acudía, tuviera o no signos y/o síntomas de infección. En el caso de aislar ECN en las muestras de vigilancia, no se modificaron los periodos de toma de muestras, por lo tanto seguían tomándose muestras quincenalmente, y no se tomó un HC hasta que cumplieran los criterios establecidos. Si se hubieran tomado HC central y periférico siempre que se hubiera tenido una muestra positiva de colonización por ECN, no sabemos en cuantas ocasiones hubiera sido positivo, y si el margen de días observado (51 días) desde la detección de colonización hasta el desarrollo de BRC hubiera sido menor.

En este estudio no se tuvo ningún episodio de BRC ni de colonización endoluminal causada por *S. aureus*. Por lo tanto no se ha podido valorar la utilidad de las muestras de vigilancia para este microorganismo en concreto. Sin embargo, hay que tener en cuenta que el crecimiento de *S. aureus* es muy rápido y cabe la posibilidad de que no pudiera detectarse con suficiente antelación como para evitar la BRC [82, 110, 111, 172].

La realización de futuros estudios que tengan en cuenta estas limitaciones podrán contribuir a esclarecer y/o reforzar los aspectos relacionados con la dinámica de colonización de los CVCT en los pacientes de HD.

5.7. PROPUESTA DE ALGORITMO DE VIGILANCIA DE LA COLONIZACIÓN ENDOLUMINAL DEL CATÉTER VENOSO CENTRAL TUNELIZADO EN PACIENTES DE HEMODIÁLISIS

Los resultados de nuestro estudio demuestran que la vigilancia de la colonización endoluminal en los pacientes en hemodiálisis portadores de un catéter venoso central tunelizado es una herramienta útil para el control de las infecciones relacionadas con estos dispositivos vasculares. Esta estrategia debería realizarse junto

DISCUSIÓN

con otra serie de medidas básicas, que tienen que ver con la actualización y adherencia a los protocolos de inserción y mantenimiento de los catéteres vasculares en los pacientes de HD, con programas de formación del personal sanitario y programas de educación sanitaria de los pacientes, y con la utilización de indicadores que permitan monitorizar la incidencia de infecciones relacionadas con el catéter y de sus complicaciones.

Basado en los resultados de este estudio, se propone la implementación de un protocolo de vigilancia de la colonización endoluminal del CVCt para la prevención de la BRC en pacientes en HD. Este método puede ser utilizado para el cribado de los pacientes en HD y detectar aquéllos con especial riesgo de desarrollo de BRC, los cuales se podrán beneficiar de intervenciones terapéuticas específicas. El objetivo final de este protocolo sería la reducción de las infecciones relacionadas con el catéter, principalmente de BRC, de ingresos repetidos y frecuentes, y especialmente de complicaciones infecciosas relacionadas con BRC, entre otras: endocarditis, tromboflebitis sépticas, artritis e infecciones de prótesis articulares.

Los puntos en los que se debería basar este protocolo de vigilancia son los siguientes:

- Vigilancia de la colonización endoluminal del CVCt: se propone la recogida quincenal de muestras de la mezcla de sangre y solución de sellado (≈ 5 ml) a través de la rama arterial. Esta muestra se extraerá sin purgar el catéter previamente, y se inoculará en un frasco de hemocultivo aerobio. Los frascos de hemocultivos se introducirán en un sistema automático de monitorización de crecimiento bacteriano. El protocolo de actuación propuesto a partir de los resultados de estos cultivos se especifica en la figura 20.
- Vigilancia del aspecto del orificio de inserción del CVCt. En cada sesión de HD se revisará el área del orificio de entrada del catéter para la búsqueda de signos

DISCUSIÓN

inflamatorios indicativos de posible infección, y en caso de sospecha se tomarán las muestras clínicas habituales y se procederá de acuerdo a las recomendaciones de los protocolos de diagnóstico y manejo de las infecciones relacionadas con el catéter [52, 52, 92, 178, 344]

- En caso de sospecha clínica de BRC se procederá a la extracción hemocultivos simultáneos, extraídos a través de ambas ramas del catéter y otro de vena periférica, con la finalidad de detectar si existe bacteriemia y el origen de la misma. Los pacientes con sospecha clínica de BRC y aquellos con BRC confirmada deberán ser manejados, desde el punto de vista del diagnóstico y tratamiento de acuerdo a las prácticas clínicas habituales y a las recomendaciones de las sociedades científicas [92, 178, 344].
- Se propone también vigilar la colonización nasal por *S. aureus* en este grupo de pacientes. Se determinará el estado de portador nasal de *S. aureus*, tanto resistente como sensible a meticilina. En los casos de colonización se propondrá la erradicación mediante tratamiento tópico con mupirocina, y se extremarán las medidas de control de la infección hospitalaria.

En esta estrategia propuesta, los resultados de los cultivos de vigilancia de la CEC serán la base de las medidas posteriores de actuación (Figura 20). Los pacientes asintomáticos con resultados negativos continuarían con los cultivos de vigilancia quincenales, mientras que en aquellos con cultivos positivos cabrían dos posibilidades. Si los microorganismos identificados fueran microorganismos con gran poder patógeno como por ejemplo *S. aureus*, BGN y/o levaduras, el manejo debe quedar inmediatamente supeditado al criterio facultativo del nefrólogo basándose para ello en las guías, protocolos y recomendaciones existentes. Si el microorganismo aislado es poco virulento, microorganismos residentes de la flora propia de la piel y/o

DISCUSIÓN

microorganismos que frecuentemente suelen contaminar este tipo de muestras (tendríamos que incluir aquí microorganismos como por ejemplo ECN, estreptococos del grupo viridans, *Corynebacterium spp*), en este caso sería prudente revisar el tiempo de positividad de las muestras de vigilancia de la CEC. Si éste es inferior a 14 horas, a pesar de valorar el microorganismo como poco patógeno, sabemos que son capaces de colonizar un catéter y desarrollar BRC, por lo tanto se procedería al tratamiento de dicho catéter, asumiendo que el desarrollo de una BRC ocurriría si no se toma ninguna medida al respecto. En el caso de que el tiempo de crecimiento fuera superior a 14 horas, estos pacientes, podrían ser candidatos para la confirmación de la colonización mediante la repetición de los cultivos. Una vez confirmada la colonización endoluminal del catéter, y conociendo el patrón de resistencia del agente causante de dicha colonización, sería posible realizar una intervención específica, a medida para ese paciente y microorganismo en concreto.

Un aspecto importante relacionado con el diagnóstico de BRC es la toma de HC simultáneos a través del catéter y a través de vena periferia. En nuestro estudio, así se realizó el diagnóstico de BRC en todos los pacientes, con la finalidad de evaluar si las muestras de monitorización de la CEC, mostraban información fiable en el diagnóstico de BRC. Una vez comprobada esta correspondencia, nosotros recomendamos obtener muestras solamente a través del CVC, manipulando así menos las vías del paciente y favoreciendo su conservación para la realización en un futuro de una posible FAV. Con la información aportada por la positividad de los cultivos de vigilancia e incluyendo el dato del tiempo de positividad, se tendría la certeza de que el CVCT está colonizado significativamente, y que se desarrollará BRC a no ser que se intervenga. En este momento se tendría que proceder al tratamiento preventivo de esos CVCT, con la finalidad de evitar el desarrollo de infección.

DISCUSIÓN

En resumen, pacientes con colonización endoluminal del catéter sin BRC podrían ser candidatos a recibir terapia de sellado del catéter, y para aquellos que tuvieran BRC, la terapia de sellado se podría usar en conjunción con la terapia sistémica antimicrobiana según las recomendaciones para microorganismos específicos [92]. Esta temprana y dirigida terapia antimicrobiana, podría incrementar la probabilidad de salvar el catéter con un riesgo reducido en términos de desarrollo de resistencia bacteriana, recurrencias y complicaciones infecciosas. Con la extracción de muestras de monitorización consecutivas, y el procesamiento de éstas mediante técnicas de las que se pueda extraer información no sólo cualitativa, como es el resultado positivo o negativo de un cultivo, sino información cuantitativa, como es el tiempo de positividad, se reduce el riesgo de valorar probables contaminantes como causantes significativos de colonización.

La estrategia propuesta necesita ser validada en los pacientes en HD con CVCT, mediante la realización de un estudio prospectivo que incluya un número de pacientes suficiente y una duración adecuada. El objetivo de esta validación sería determinar si esta estrategia preventiva consigue reducir el número de infecciones relacionadas con el catéter, midiendo la tasa de BRC, y si consigue salvar un número elevado de catéteres.

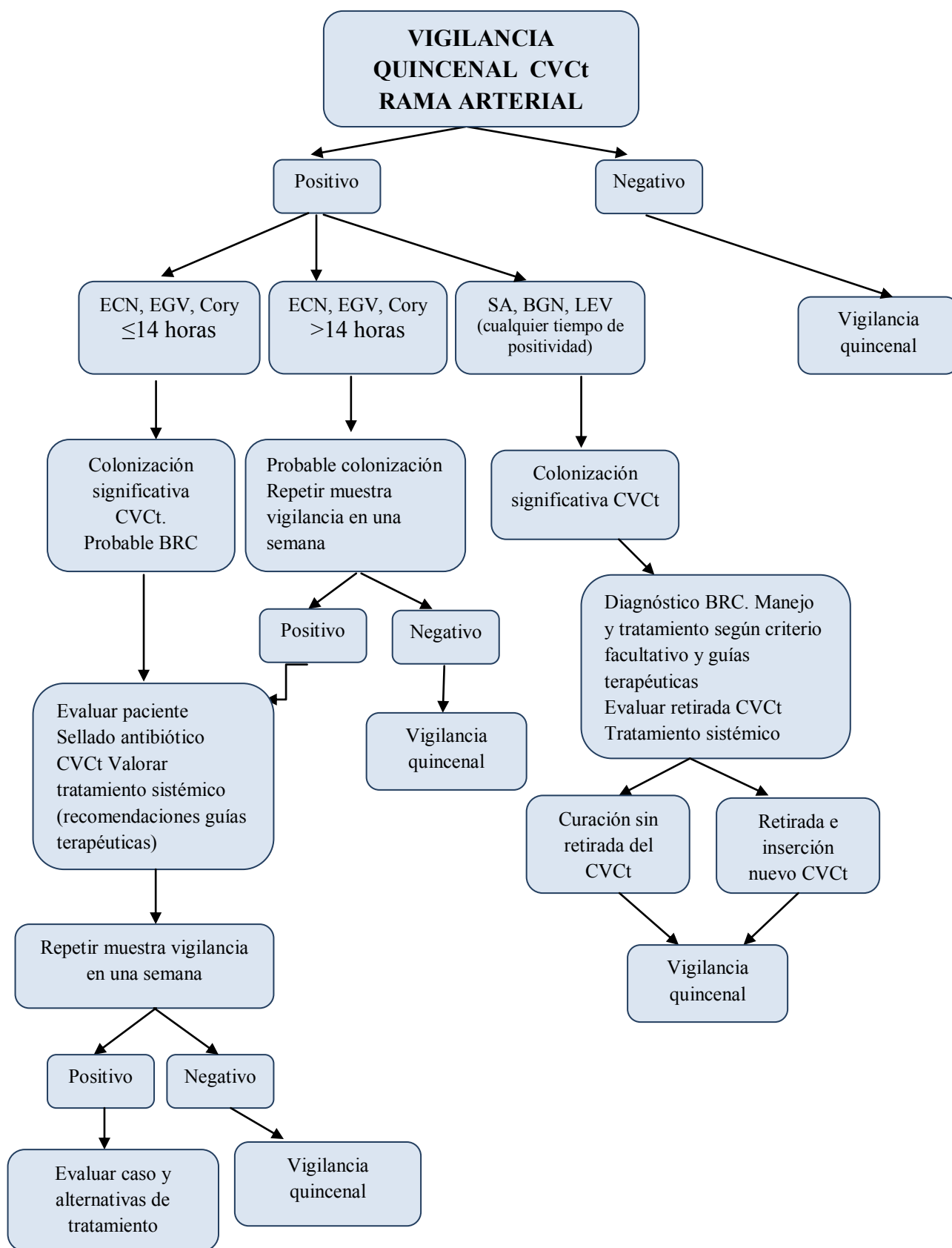


Figura 20. Diagrama esquemático propuesto de la estrategia de vigilancia de la colonización endoluminal en los pacientes asintomáticos portadores de CVCt en HD y recomendaciones de actuación. Nota: ECN: estafilococo coagulasa negativa. EGV: estreptococos del grupo viridans; Cory: *Corynebacterium* spp.; SA. *S. aureus*; BGN: bacilos gram negativos. LEV: levaduras.

CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

1. La incidencia de bacteriemia relacionada con el catéter en los pacientes en hemodiálisis portadores de catéteres venosos centrales fue de 1,65 episodios por 1.000 días de catéter. Aunque esta tasa se encuentra por debajo de muchas de las publicadas en la literatura científica, existe todavía margen para reducir este tipo de infecciones.
2. *Staphylococcus epidermidis* estuvo implicado en el 76% de las bacteriemias relacionadas con el catéter. El 83% de los aislamientos presentaron resistencia a meticilina. No se observó resistencia a glucopéptidos ni linezolid.
3. Durante el periodo de estudio se colonizaron el 25% de los 64 catéteres monitorizados. Dicha colonización ocurrió 378 días después de la inserción del catéter. Este resultado indica que los catéteres pueden permanecer durante un tiempo prolongado libres de colonización e infección.
4. En nuestro estudio todos los episodios de BRC fueron precedidos por muestras de colonización endoluminal del catéter positivas. El tiempo estimado desde la colonización hasta el desarrollo de BRC por cualquier etiología fue de 41 días, y para BRC por *S. epidermidis* de 53 días.
5. Las muestras de vigilancia de colonización del catéter, basadas en el cultivo de la mezcla de la solución de sellado y sangre contenida en los catéteres y procesadas en el sistema automático de hemocultivos, permiten la detección de colonización endoluminal sin ocasionar molestias o riesgos para el paciente en hemodiálisis.

CONCLUSIONES

6. Los valores de sensibilidad, especificidad, y valores predictivos positivo y negativo de las muestras de vigilancia de colonización fueron, globalmente, 95,2%, 86,2%, 83,3% y 96,2%, respectivamente. Estos resultados indican que los cultivos de vigilancia pueden ser utilizados para predecir el riesgo de desarrollar BRC.
7. El tiempo de crecimiento de las muestras de vigilancia de colonización aporta información útil para predecir el riesgo de desarrollo de BRC. En el caso de *S. epidermidis* un tiempo inferior a 14 horas tiene un elevado valor predictivo positivo (96,1%). La combinación del resultado del cultivo y el tiempo de crecimiento podrían utilizarse para identificar casos con alta probabilidad de desarrollo de BRC.
8. El estudio de epidemiología molecular demostró que los aislamientos de *S. epidermidis* causantes de colonización endoluminal del catéter fueron los mismos que finalmente estuvieron implicados en el desarrollo de bacteriemia relacionada con dicho catéter.
9. Aunque *S. epidermidis* fue el microorganismo más frecuentemente implicado en la colonización e infección de los catéteres, en nuestro estudio no se encontró diseminación clonal por *S. epidermidis* en los pacientes de hemodiálisis.
10. El análisis de una selección de determinantes genéticos de virulencia indica que los genes *icaA*, *icaD* y la secuencia de inserción IS256, son marcadores moleculares que se encuentran presentes en las cepas hospitalarias de *S. epidermidis*, con capacidad patogénica de colonizar la superficie endoluminal de los catéteres y de producir infecciones bacteriémicas relacionadas con estos dispositivos vasculares.

CONCLUSIONES

11. En las cepas de *S. epidermidis* no se encontró diferencia en la capacidad de producción de *biocapa* entre las cepas hospitalarias y comunitarias. Además, no se encontró relación entre la presencia de los genes *icaA* e *icaD* con la formación de *biocapa* estudiada mediante el medio de cultivo de agar Rojo Congo.
12. La presencia de los elementos genéticos *icaA*, *icaD* e IS256 se asoció con multirresistencia a los antimicrobianos en las cepas de *S. epidermidis*.

BIBLIOGRAFÍA

7. BIBLIOGRAFIA

1. Fariñas, M. C. 2008. Infecciones asociadas a los catéteres utilizados para la hemodiálisis y la diálisis peritoneal. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 26:518.
2. Valderrábano, F. 1999. *Tratado de hemodiálisis*. Barcelona: Editorial Médica JIMS.
3. Levey, A. S., J. Coresh, E. Balk, A. T. Kausz, A. Levin, M. W. Steffes, R. J. Hogg, R. D. Perrone, J. Lau, and G. Eknoyan. 2003. National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Ann. Intern. Med.* 139:137.
4. Schena, F. P. 2000. Epidemiology of end-stage renal disease: International comparisons of renal replacement therapy. *Kidney Int.* 57:S39-S45.
5. Weiner, D. 2007. Causes and consequences of chronic kidney disease: implications for managed health care. *Journal of Managed Care Pharmacy: JMCP.* 13:S1.
6. Alcázar Arroyo, R., L. M. Orte Martínez, and A. Otero González. 2008. Enfermedad renal crónica avanzada. *Nefrología: Publicación Oficial De La Sociedad Española De Nefrología*. 28:3-6.
7. López Revuelta, K. R. Saracho¹, F. García López, M. A. Gentil¹, P. Castro, J. Castilla, J. A. Gutiérrez, E. Martín-Martínez, R. Alonso⁴, R. Bernabéu, M. A. Munar, V. Lorenzo, N. Vega, R. Escallada, T. Sierra, M. Lara, C. Estébanez⁹, M. Clèries¹⁰, E. Vela, S. Tallón, M. J. García-Blasco, O. Zurriaga, C. Vázquez, A. Sánchez-Casajús¹⁴, A. Torralbo, R. Rodado, A. Genovés, J. Ripoll, J. L. Asín¹⁷, A. Magaz y J. Aranzábal 2004. Informe de diálisis y trasplante correspondiente al año 2001 de la Sociedad Española de Nefrología y Registros Autonómicos. *Nefrología*. Vol 24, nº. 1.
8. Registro Español de Enfermos Renales. 2007. Informe de Diálisis y Trasplante 2006 Cádiz: XXXVII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Nefrología.
9. Informe 2006 de diálisis y trasplante renal en España. 2009. Registro Español de Enfermos Renales. *Nefrología*. 29(6):525-33.
10. Arrieta, J. 2010. Evaluación económica del tratamiento sustitutivo renal (hemodiálisis, diálisis peritoneal y trasplante) en España. *Nefrología*. 1:37-47.
11. Himmelfarb, J. 2005. Hemodialysis complications. *Am J Kidney Dis.* Jun;45(6):1122-31.

BIBLIOGRAFÍA

12. KF-DOQI Clinical Practice Guidelines for Vascular Access. 1997. National Kidney Foundation-Dialysis Outcomes Quality Initiative. *Am J Kidney Dis.* Oct;30 (4 Suppl 3):S150-91.
13. Weiswasser, J. M., D. Kellicut, S. Arora, and A. N. Sidawy. 2004. Strategies of arteriovenous dialysis access, p. 10-18. *Seminars in vascular surgery.* Elsevier.
14. Ascher, E., and A. Hingorani. 2004. The dialysis outcome and quality initiative (DOQI) recommendations, p. 3-9. *Seminars in vascular surgery.* Elsevier.
15. Kalman, P. G., M. Pope, C. Bhola, R. Richardson, and K. W. Sniderman. 1999. A practical approach to vascular access for hemodialysis and predictors of success. *Journal of Vascular Surgery.* 30:727-733.
16. NKF-K/DOQI. 2001. Clinical Practice Guidelines for Vascular Access. *Am J Kidney Dis.* Jan;37 (1 Suppl 1):S137-81.
17. Eknoyan, G., and N. W. Levin. 2000. Impact of the new K/DOQI guidelines. *Blood Purif.* 20:103-108.
18. Feldman, H. I., S. Kobrin, and A. Wasserstein. 1996. Hemodialysis vascular access morbidity. *Journal of the American Society of Nephrology.* 7:523.
19. Rodríguez Hernández, J., E. González Parra, and J. Julián Gutiérrez. 2005. Vascular access guidelines for hemodialysis. *Nefrología.* 25:3-97.
20. Palder, S. B., R. L. Kirkman, A. D. Whittemore, R. M. Hakim, J. M. Lazarus, and N. L. Tilney. 1985. Vascular access for hemodialysis. Patency rates and results of revision. *Ann. Surg.* 202:235-239.
21. National Kidney Foundation (NKF). 2006. Clinical practice guidelines and clinical practice recommendations for vascular access, update 2006.
22. Harland, R. C. 1994. Placement of permanent vascular access devices: surgical considerations. *Adv. Ren. Replace. Ther.* 1:99-106.
23. Fan, P. Y., and S. J. Schwab. 1992. Vascular access: concepts for the 1990s. *J. Am. Soc. Nephrol.* 3:1-11.
24. Butterly, D., and S. J. Schwab. 2002. The case against chronic venous hemodialysis access. *J. Am. Soc. Nephrol.* 13:2195-2197.

BIBLIOGRAFÍA

25. Albers, F. J. 1994. Causes of hemodialysis access failure. *Adv. Ren. Replace. Ther.* 1:107-118.
26. Pisoni, R. L., E. W. Young, D. M. Dykstra, R. N. Greenwood, E. Hecking, B. Gillespie, R. A. Wolfe, D. A. Goodkin, and P. J. Held. 2002. Vascular access use in Europe and the United States: results from the DOPPS. *Kidney Int.* 61:305-316.
27. Domingo Cebrián, E., J. Alonso Salamanca, and J. González Molina. 2004. Catéteres en las Unidades de Hemodiálisis una realidad que no puede ser ignorada, p. 320-321. Libro de Comunicaciones del XXIX Congreso de la Sociedad Española de Enfermería Nefrológica; Tenerife.
28. Powe, N. R., B. Jaar, S. L. Furth, J. Hermann, and W. Briggs. 1999. Septicemia in dialysis patients: incidence, risk factors, and prognosis. *Kidney Int.* 55:1081-1090.
29. Rodríguez Hernández, J.A., J. López Pedret, and L. Piera. 2001. Vascular access in Spain: analysis of its distribution, morbidity, and monitoring systems. *Nefrología.* 21:45-51.
30. Tokars, J. I., M. Frank, M. J. Alter, and M. J. Arduino. 2002. National surveillance of dialysis-associated diseases in the United States, 2000, p. 162-171. *Seminars in Dialysis.*
31. Mendelssohn, D. C., J. Ethier, S. J. Elder, R. Saran, F. K. Port, and R. L. Pisoni. 2006. Haemodialysis vascular access problems in Canada: results from the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS II). *Nephrology Dialysis Transplantation.* 21:721-728.
32. Rayner, H. C., A. Besarab, W. W. Brown, A. Disney, A. Saito, and R. L. Pisoni. 2004. Vascular access results from the dialysis outcomes and practice patterns study (DOPPS): Performance against kidney disease outcomes quality initiative (K/DOQI) clinical practice guidelines. *American Journal of Kidney Diseases.* 44:22-26.
33. Segura Iglesias, R., and J. M. Gutiérrez Julián. 2005. Guías de acceso vascular en hemodiálisis: Presentación. *Angiología.* 57:117-118.
34. NKF-KDOQI. 2006. Clinical practice guidelines for vascular access:update 2006. *Am. J. Kidney Dis.* 48:S176-S247.
35. Wasse, H., R. A. Speckman, D. L. Frankenfield, M. V. Rocco, and W. M. McClellan. 2007. Predictors of delayed transition from central venous catheter use to permanent vascular access among ESRD patients. *American Journal of Kidney Diseases.* 49:276-283.

BIBLIOGRAFÍA

36. Ethier, J., D. C. Mendelssohn, S. J. Elder, T. Hasegawa, T. Akizawa, T. Akiba, B. J. Canaud, and R. L. Pisoni. 2008. Vascular access use and outcomes: an international perspective from the dialysis outcomes and practice patterns study. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 23:3219-3226.
37. Tanriover, B., D. Carlton, S. Saddekni, K. Hamrick, R. Oser, A. O. Westfall, and M. Allon. 2000. Bacteremia associated with tunneled dialysis catheters: comparison of two treatment strategies. *Kidney Int*. 57:2151-2155.
38. Canaud, B. 1999. Haemodialysis catheter-related infection: time for action. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 14:2288.
39. Lee, T., J. Barker, and M. Allon. 2005. Tunneled catheters in hemodialysis patients: Reasons and subsequent outcomes. *American Journal of Kidney Diseases*. 46:501-508.
40. Mauro, M. A., and P. F. Jaques. 1996. Insertion of long-term hemodialysis catheters by interventional radiologists: the trend continues. *Radiology*. 198:316.
41. Weijmer, M. C., M. G. Vervloet, and P. M. Ter Wee. 2004. Compared to tunnelled cuffed haemodialysis catheters, temporary untunnelled catheters are associated with more complications already within 2 weeks of use. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 19:670.
42. Perini, S., J. M. LaBerge, J. M. Pearl, H. L. Santiestiban, H. E. Ives, R. S. Omachi, M. Graber, M. W. Wilson, S. R. Marder, and B. R. Don. 2000. Tesio Catheter: Radiologically Guided Placement, Mechanical Performance, and Adequacy of Delivered Dialysis¹. *Radiology*. 215:129.
43. Sullivan, R., V. Samuel, C. Le, M. Khan, I. Alexandraki, B. Cuhaci, and N. S. Nahman. 2007. Hemodialysis vascular catheter-related bacteremia. *Am. J. Med. Sci*. 334:458-465.
44. Pearson, M. L. 1996. Guideline for prevention of intravascular-device-related infections. *Infection Control and Hospital Epidemiology*. 17:438-473.
45. De Cicco, M., C. Campisi, and M. Matovic. 2003. Central venous catheter-related bloodstream infections: Pathogenesis factors, new perspectives in prevention and early diagnosis. *J. Vasc. Access*. 4:83-91.
46. Schinabeck, M., and M. Ghannoum. 2003. Catheter-related infections--diagnosis, treatment, and prevention. *Clin. Microbiol. Newsl*. 25:113-118.
47. Lok, C. E. 2006. Avoiding Trouble Down the Line: The Management and Prevention of Hemodialysis Catheter-Related Infections. *Advances in Chronic Kidney Disease*. 13:225-244.

BIBLIOGRAFÍA

48. Sheth, N., T. Franson, H. Rose, F. Buckmire, J. Cooper, and P. Sohnle. 1983. Colonization of bacteria on polyvinyl chloride and Teflon intravascular catheters in hospitalized patients. *J. Clin. Microbiol.* 18:1061.
49. Maki, D. G., and M. Ringer. 1987. Evaluation of dressing regimens for prevention of infection with peripheral intravenous catheters. *JAMA: The Journal of the American Medical Association.* 258:2396-2403.
50. Maki, D. G., and M. Ringer. 1991. Risk factors for infusion-related phlebitis with small peripheral venous catheters. *Ann. Intern. Med.* 114:845-854.
51. Oliver, M. J. 2001. Acute dialysis catheters. *Seminars in dialysis.* p. 432-435.
52. O'Grady, N. P., M. Alexander, L. A. Burns, E. P. Dellinger, J. Garland, S. O. Heard, P. A. Lipsett, H. Masur, L. A. Mermel, and M. L. Pearson. 2011. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. *Clinical Infectious Diseases.* 52-62.
53. Oliver, M. J., S. M. Callery, K. E. Thorpe, S. J. Schwab, and D. N. Churchill. 2000. Risk of bacteremia from temporary hemodialysis catheters by site of insertion and duration of use: a prospective study. *Kidney Int.* 58:2543-2545.
54. Saad, T. F. 1999. Bacteremia associated with tunneled, cuffed hemodialysis catheters. *American Journal of Kidney Diseases.* 34:1114-1124.
55. De Cicco, M., M. Matovic, L. Balestreri, G. Panarello, D. Fantin, S. Morassut, and V. Testa. 1997. Central venous thrombosis: an early and frequent complication in cancer patients bearing long-term silastic catheter. A prospective study. *Thromb. Res.* 86:101-113.
56. Schillinger, F., D. Schillinger, R. Montagnac, and T. Milcent. 1991. Post Catheterisation Vein Stenosis in Haemodialysis: Comparative Angiographic Study of 50 Subclavian and 50 Internal Jugular Accesses. *Nephrology Dialysis Transplantation.* 6 (10):722-4.
57. Trerotola, S. O., J. Kuhn-Fulton, M. S. Johnson, H. Shah, W. T. Ambrosius, and P. H. Kneebone. 2000. Tunneled Infusion Catheters: Increased Incidence of Symptomatic Venous Thrombosis after Subclavian versus Internal Jugular Venous Access¹. *Radiology.* 217:89.
58. Work, J. 2001. Chronic catheter placement. *Seminars in dialysis.* p. 436-440.

BIBLIOGRAFÍA

59. Schwab, S. J., and G. Beathard. 1999. The hemodialysis catheter conundrum: Hate living with them, but can't live without them. *Kidney Int.* 56:1-17.
60. Twardowski, Z. 2000. Vascular access for hemodialysis: an historical perspective of intravenous catheters. *Journal of Vascular Access.* 1:42-45.
61. Astor, B. C., J. A. Eustace, N. R. Powe, M. J. Klag, N. E. Fink, and J. Coresh. 2005. Type of vascular access and survival among incident hemodialysis patients: the Choices for Healthy Outcomes in Caring for ESRD (CHOICE) Study. *Journal of the American Society of Nephrology.* 16:1449.
62. Manns, B., M. Tonelli, S. Yilmaz, H. Lee, K. Laupland, S. Klarenbach, V. Radkevich, and B. Murphy. 2004. Establishment and maintenance of vascular access in incident hemodialysis patients: a prospective cost analysis. *Journal of the American Society of Nephrology. J Am Soc Nephrol* 16: 201–209,
63. McGee, D. C., and M. K. Gould. 2003. Preventing complications of central venous catheterization. *N. Engl. J. Med.* 348:1123-1133.
64. Polderman, K. H., and A. R. Girbes. 2002. Central venous catheter use. *Intensive Care Med.* 28:1-17.
65. Schummer, W., C. Schummer, and H. Fritz. 2001. Perforation of the superior vena cava due to unrecognized stenosis. Case report of a lethal complication of central venous catheterization. *Anaesthesist.* 50:772-777.
66. Silberzweig, J. E., D. Sacks, A. S. Khorsandi, C. W. Bakal, and Society of Interventional Radiology Technology Assessment Committee. 2003. Reporting standards for central venous access. *J. Vasc. Interv. Radiol.* 14:S443-52.
67. Skiest, D., M. Abbott, and P. Keisere. 2000. Peripherically inserted catheter in patients with AIDS are associated with a low infection rate. *Cleis Infect Dis.* 30:949-952.
68. Strahleritz, J., I. Lossos, A. Verstanding, T. Sasson, Y. Kori, and S. Gillis. 2001. Vascular access via peripherally inserted central venous catheter: experience in 40 patients with acute leukaemia. *Leuk. Lymphoma.* 40:365-367.
69. Cowl, C., J. Weinstock, A. Al-Jurf, K. Ephgrave, J. Murray, and K. Dillon. 2000. Complications and cost associated with parenteral nutrition delivered to hospitalized patients through either subclavian or peripherally-inserted central catheters. *Clinical Nutrition.* 19:237-243.

BIBLIOGRAFÍA

70. Schon, D., and D. Whittman. 2003. Interventional Nephrology and Dialysis: Managing the Complications of Long-Term Tunneled Dialysis Catheters. *Seminars in Dialysis*. p. 314-322.
71. Liangos, O., A. Gul, N. E. Madias, and B. L. Jaber. 2006. Unresolved issues in dialysis: Long-Term Management of the Tunneled Venous Catheter. *Seminars in dialysis*.p. 158-164.
72. Marr, K. A., D. J. Sexton, P. J. Conlon, G. R. Corey, S. J. Schwab, and K. B. Kirkland. 1997. Catheter-related bacteremia and outcome of attempted catheter salvage in patients undergoing hemodialysis. *Ann. Intern. Med.* 127:275-280.
73. Allon, M. 2003. Prophylaxis against dialysis catheter-related bacteremia with a novel antimicrobial lock solution. *Clinical Infectious Diseases*. 36:1539.
74. Nassar, G. M., and J. C. Ayus. 2001. Infectious complications of the hemodialysis access. *Kidney Int.* 60:1-13.
75. Tessitore, N., V. Bedogna, L. Gammara, G. Lipari, A. Poli, E. Baggio, M. Firpo, G. Morana, G. Mansueto, and G. Maschio. 2003. Diagnostic accuracy of ultrasound dilution access blood flow measurement in detecting stenosis and predicting thrombosis in native forearm arteriovenous fistulae for hemodialysis. *American Journal of Kidney Diseases*. 42:331-341.
76. Timsit, J. F., B. Misset, J. Carlet, J. M. Boyer, J. C. Farkas, J. B. Martin, and B. Renaud. 1998. Central vein catheter-related thrombosis in intensive care patients. *Chest*. 114:207.
77. Vaudaux, P., D. Pittet, A. Haeberli, E. Huggler, U. E. Nydegger, D. P. Lew, and F. A. Waldvogel. 1989. Host factors selectively increase staphylococcal adherence on inserted catheters: a role for fibronectin and fibrinogen or fibrin. *J. Infect. Dis.* 160:865.
78. Raad, I. I., M. Luna, S. A. M. Khalil, J. W. Costerton, C. Lam, and G. P. Bodey. 1994. The relationship between the thrombotic and infectious complications of central venous catheters. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*. 271:1014.
79. Fortún, J. 2008. Infections related to intravascular devices used for infusion therapy]. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 26:168.
80. Vaudaux, P., D. Lew, and F. Waldvogel. 2000. Host factors predisposing to and influencing therapy of foreign body infections. *Infections Associated with Indwelling Medical Devices*. American Society for Microbiology, Washington, DC. 1-26.

BIBLIOGRAFÍA

81. Peters, W. R., W. H. Bush Jr, R. D. McIntyre, and L. D. Hill. 1973. The development of fibrin sheath on indwelling venous catheters. *Surg. Gynecol. Obstet.* 137:43-47.
82. Del Pozo, J. L., A. Aguinaga, N. Garcia-Fernandez, S. Hernaez, A. Serrera, M. Alonso, A. Ramos, F. Guillen-Grima, and J. Leiva. 2008. Intra-catheter leukocyte culture to monitor hemodialysis catheter colonization. A prospective study to prevent catheter-related bloodstream infections. *Int. J. Artif. Organs.* 31:820-826.
83. Stoodley, P., K. Sauer, D. Davies, and J. Costerton. 2002. Biofilms as complex differentiated communities. *Annual Reviews in Microbiology.* 56:187-209.
84. Christensen, G. D., W. A. Simpson, J. J. Younger, L. M. Baddour, F. F. Barrett, D. M. Melton, and E. H. Beachey. 1985. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *J. Clin. Microbiol.* 22:996-1006.
85. Christensen, G. D., W. A. Simpson, A. L. Bisno, and E. H. Beachey. 1982. Adherence of slime-producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. *Infect. Immun.* 37:318-326.
86. Karnik, R., A. Valentin, W. B. Winkler, P. Donath, and J. Slany. 1993. Duplex sonographic detection of internal jugular venous thrombosis after removal of central venous catheters. *Clin. Cardiol.* 16:26-29.
87. O'Riordan, E., and P. J. Conlon. 1998. Haemodialysis catheter bacteraemia: Evolving strategies. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 7:639.
88. Raad, I., W. Costerton, U. Sabharwal, M. Sacilowski, E. Anaissie, and G. Bodey. 1993. Ultrastructural analysis of indwelling catheters: a quantitative relationship between luminal colonization and duration of placement. *J. Infect. Dis.* 168:400-407.
89. Henrickson, K. J., R. A. Axtell, S. M. Hoover, S. M. Kuhn, J. Pritchett, S. C. Kehl, and J. P. Klein. 2000. Prevention of central venous catheter-related infections and thrombotic events in immunocompromised children by the use of vancomycin/ciprofloxacin/heparin flush solution: a randomized, multicenter, double-blind trial. *Journal of Clinical Oncology.* 18:1269.
90. Ascher, D. P., B. A. Shoupe, D. Maybee, and G. W. Fischer. 1993. Persistent catheter-related bacteremia: clearance with antibiotics and urokinase. *J. Pediatr. Surg.* 28:627-629.
91. La Quaglia, M. P., C. Caldwell, A. Lucas, M. Corbally, G. Heller, L. Steinherz, A. E. Brown, J. Groeger, and P. R. Exelby. 1994. A prospective randomized double-blind

BIBLIOGRAFÍA

trial of bolus urokinase in the treatment of established Hickman catheter sepsis in children. *J. Pediatr. Surg.* 29:742-745.

92. Mermel, L. A., M. Allon, E. Bouza, D. E. Craven, P. Flynn, N. P. O'Grady, I. I. Raad, B. J. A. Rijnders, R. J. Sherertz, and D. K. Warren. 2009. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases.* 49:1.

93. Katneni, R. 2007. Central venous catheter-related bacteremia in chronic hemodialysis patients: epidemiology and evidence-based management. *Nature.* 3:256-266.

94. Moysés Neto, M., O. M. Vieira-Neto, and J. F. C. Figueiredo. 2003. Bacterial colonization in a hemodialysis dual lumen temporary catheter. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 36:431-432.

95. Dittmer, I., D. Sharp, C. McNulty, A. Williams, and R. Banks. 1999. A prospective study of central venous hemodialysis catheter colonization and peripheral bacteremia. *Clin. Nephrol.* 51:34-39.

96. Saxena, A. K., and B. R. Panhotra. 2005. Haemodialysis catheter-related bloodstream infections: current treatment options and strategies for prevention. *Swiss Med. Wkly.* 135:127-138.

97. Taylor, G., D. Gravel, L. Johnston, J. Embil, D. Holton, and S. Paton. 2004. Incidence of bloodstream infection in multicenter inception cohorts of hemodialysis patients. *Am. J. Infect. Control.* 32:155-160.

98. U.S. Renal Data System USRDS 2005. Annual data report: Atlas of end-stage renal disease in the United States in Incidence and Prevalence; Patient Characteristics. Bethesda, MD, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases.

99. Hoen, B., A. Paul-Dauphin, D. Hestin, and M. Kessler. 1998. EPIBACDIAL: a multicenter prospective study of risk factors for bacteremia in chronic hemodialysis patients. *Journal of the American Society of Nephrology.* 9:869.

100. Kessler, M., B. Hoen, D. Mayeux, D. Hestin, and C. Fontenaille. 1993. Bacteremia in patients on chronic hemodialysis. *Nephron.* 64:95-100.

101. Lew, S. Q., and K. Kaveh. 2000. Dialysis access related infections. *ASAIO Journal.* 46:S6.

BIBLIOGRAFÍA

102. Stevenson, M. K., M. M. Adcox, M. M. Mallea, M. N. Narasimhan, and M. J. Wagnild. 2000. Standardized Surveillance of Hemodialysis Vascular Access Infections: 18-Month Experience at an Outpatient, Multifacility Hemodialysis Center •. *Infection Control and Hospital Epidemiology*. 21:200-203.
103. Nucifora, G., L. P. Badano, P. Viale, P. Gianfagna, G. Allocca, D. Montanaro, U. Livi, and P. M. Fioretti. 2007. Infective endocarditis in chronic haemodialysis patients: an increasing clinical challenge. *Eur. Heart J.* 28:230.
104. Cheesbrough, J., R. Finch, and R. Burden. 1986. A prospective study of the mechanisms of infection associated with hemodialysis catheters. *J. Infect. Dis.* 154:579.
105. Almirall, J., J. Gonzalez, J. Rello, J. M. Campistol, J. Montoliu, I. B. Puig de, L. Revert, and J. M. Gatell. 1989. Infection of hemodialysis catheters: incidence and mechanisms. *Am. J. Nephrol.* 9:454-459.
106. Dahlberg, P. J., W. R. Yutuc, and K. L. Newcomer. 1986. Subclavian hemodialysis catheter infections. *Am. J. Kidney Dis.* 7:421-427.
107. Cisneros-Herreros, J., J. Cobo-Reinoso, M. Pujol-Rojo, J. Rodríguez-Baño, and M. Salavert-Lletí. 2007. [Guidelines for the diagnosis and treatment of patients with bacteriemia. Guidelines of the Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica]. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 25:111-130.
108. Maki DG, M. L. 1998. Infections due to infusion therapy. In: Bennet JV, Brachman PS. eds. *Hospital Infection*. Philadelphia. Lippincott-Raven. 689-724.
109. de Freitas, L. W. C., M. M. Neto, M. M. P. Nascimento, and J. F. de Castro Figueiredo. 2008. Bacterial colonization in hemodialysis temporary dual lumen catheters: a prospective study. *Ren. Fail.* 30:31-35.
110. Aguinaga Pérez, A. 2010. Tesis doctoral. Diagnóstico precoz y tratamiento preventivo de la infección relacionada con catéter venoso central tunelizado de pacientes en hemodiálisis. Facultad de Farmacia. Universidad de Navarra.
111. Nielsen, J., S. D. Ladefoged, and H. Kolmos. 1998. Dialysis catheter-related septicaemia--focus on *Staphylococcus aureus* septicaemia. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 13:2847-2852.
112. Leon, C., J. Ariza, SEIMC, and SEMICYUC. 2004. Guidelines for the treatment of short-term intravascular catheter-related infections in adults; SEIMC-SEMICYUC Consensus Conference. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 22:92-101.

BIBLIOGRAFÍA

113. Reed, S. D., J. Y. Friedman, J. J. Engemann, R. I. Griffiths, K. J. Anstrom, K. S. Kaye, M. E. Stryjewski, L. A. Szczech, L. B. Reller, G. R. Corey, K. A. Schulman, and V. G. Fowler Jr. 2005. Costs and outcomes among hemodialysis-dependent patients with methicillin-resistant or methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 26:175-183.
114. Lentino, J., L. Baddour, M. Wray, E. Wong, and V. Yu. 2000. *Staphylococcus aureus* and other bacteremias in hemodialysis patients: Antibiotic therapy and surgical removal of access site. *Infection.* 28:355-360.
115. Stevenson, K. B., E. L. Hannah, C. A. Lowder, M. J. Adcox, R. L. Davidson, M. C. Mallea, N. Narasimhan, and J. P. Wagnild. 2002. Epidemiology of hemodialysis vascular access infections from longitudinal infection surveillance data: predicting the impact of NKF-DOQI clinical practice guidelines for vascular access. *American Journal of Kidney Diseases.* 39:549-555.
116. Dopirak, M., C. Hill, M. Oleksiw, D. Dumigan, J. Arvai, E. English, E. Carusillo, S. Malo-Schlegel, J. Richo, K. Traficanti, B. Welch, and B. Cooper. 2002. Surveillance of hemodialysis-associated primary bloodstream infections: the experience of ten hospital-based centers. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 23:721-724.
117. Ishani, A., A. J. Collins, C. A. Herzog, and R. N. Foley. 2005. Septicemia, access and cardiovascular disease in dialysis patients: The USRDS Wave 2 Study1. *Kidney Int.* 68:311-318.
118. Dhingra, R. K., E. W. Young, T. Hulbert-Shearon, S. F. Leavey, and F. K. Port. 2001. Type of vascular access and mortality in US hemodialysis patients. *Kidney Int.* 60:1443-1451.
119. Álvarez Navascués, R., L. Quiñones, and J. Guerediaga. 2005. Catéter de Tesio permanente para la realización de hemodiálisis crónica: nuestra experiencia en un hospital comarcal. *Nefrologia.* 25:407-411.
120. Christopher, J. C., and D. G. Maki. 2002. The promise of novel technology for the prevention of intravascular device-related bloodstream infection. II. Long-term devices. *Clinical Infectious Diseases.* 34:1362.
121. Develter, W., A. De Cubber, W. Van Biesen, R. Vanholder, and N. Lameire. 2005. Survival and complications of indwelling venous catheters for permanent use in hemodialysis patients. *Artif. Organs.* 29:399-405.
122. Butterly, D. W., and S. J. Schwab. 2000. Dialysis access infections. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 9:631.

BIBLIOGRAFÍA

123. Foley, R. N., H. Guo, J. J. Snyder, D. T. Gilbertson, and A. J. Collins. 2004. Septicemia in the United States dialysis population, 1991 to 1999. *Journal of the American Society of Nephrology*. 15:1038.
124. Manns, B., M. Tonelli, S. Yilmaz, H. Lee, K. Laupland, S. Klarenbach, V. Radkevich, and B. Murphy. 2005. Establishment and maintenance of vascular access in incident hemodialysis patients: a prospective cost analysis. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*. 16:201.
125. Scott, R. D., and National Center for Preparedness, Detection, and Control of Infectious Diseases (Centers for Disease Control and Prevention). Division of Healthcare Quality Promotion. 2009. The direct medical costs of healthcare-associated infections in US hospitals and the benefits of prevention. Division of Healthcare Quality Promotion National Center for Preparedness, Detection, and Control of Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention.
126. Ramanathan, V., E. J. Chiu, J. T. Thomas, A. Khan, G. M. Dolson, and R. O. Darouiche. 2007. Healthcare Costs Associated with Hemodialysis Catheter-Related Infections: A Single-Center Experience. *Infection Control and Hospital Epidemiology*. 28:606-609.
127. Engemann, J., J. Y. Friedman, S. D. Reed, R. I. Griffiths, L. A. Szczech, K. S. Kaye, M. E. Stryjewski, L. B. Reller, K. A. Schulman, G. R. Corey, and V. G. Fowler Jr. 2005. Clinical outcomes and costs due to *Staphylococcus aureus* bacteremia among patients receiving long-term hemodialysis. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 26:534-539.
128. Mokrzycki, M. H., M. Zhang, H. Cohen, L. Golestaneh, J. M. Laut, and S. O. Rosenberg. 2006. Tunnelled haemodialysis catheter bacteraemia: risk factors for bacteraemia recurrence, infectious complications and mortality. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 21:1024.
129. Beathard, G. A. 1999. Management of bacteremia associated with tunneled-cuffed hemodialysis catheters. *Journal of the American Society of Nephrology*. 10:1045.
130. Onder, A., J. Chandar, S. Coakley, C. Abitbol, B. Montane, and G. Zilleruelo. 2006. Predictors and outcome of catheter-related bacteremia in children on chronic hemodialysis. *Pediatric Nephrology*. 21:1452-1458.
131. Pastan, S., J. M. Soucie, and W. M. McClellan. 2002. Vascular access and increased risk of death among hemodialysis patients. *Kidney Int.* 62:620-626.
132. Jean, G., B. Charra, C. Chazot, T. Vanel, J. Terrat, J. Hurot, and G. Laurent. 2002. Risk factor analysis for long-term tunneled dialysis catheter-related bacteremias. *Nephron*. 91:399-405.

BIBLIOGRAFÍA

133. Vanholder, R., and S. Ringoir. 1993. Infectious morbidity and defects of phagocytic function in end-stage renal disease: A review. *Journal of the American Society of Nephrology*. 3:1541.
134. Descamps-Latscha, B. 1993. The immune system in end-stage renal disease. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens*. 2:883.
135. Descamps-Latscha, B., P. Jungers, and V. Witko-Sarsat. 2000. Immune system dysregulation in uremia: role of oxidative stress. *Blood Purif*. 20:481-484.
136. Descamps-Latscha, B., T. Drüeke, and V. Witko-Sarsat. 2001. Dialysis-induced oxidative stress: biological aspects, clinical consequences, and therapy. *Semin. Dial*. 14:193-199.
137. Himmelfarb, J., and R. M. Hakim. 1994. Biocompatibility and risk of infection in haemodialysis patients. *Nephrol. Dial. Transplant*. 9 Suppl 2:138-144.
138. Tolkoff-Rubin, N. E., and R. H. Rubin. 1990. Uremia and host defenses. *N. Engl. J. Med*. 322:770-772.
139. Meier, P., E. Dayer, E. Blanc, and J. P. Wauters. 2002. Early T cell activation correlates with expression of apoptosis markers in patients with end-stage renal disease. *Journal of the American Society of Nephrology*. 13:204.
140. Chonchol, M. 2006. Hematology: issues in the dialysis patient: Neutrophil Dysfunction and Infection Risk in End-Stage Renal Disease, p. 291-296. *Seminars in Dialysis*.
141. Himmelfarb, J., K. A. Ault, D. Holbrook, D. A. Leeb, and R. M. Hakim. 1993. Intradialytic granulocyte reactive oxygen species production: A prospective, crossover trial. *Journal of the American Society of Nephrology*. 4:178.
142. Jones, P. G., C. A. Kauffman, F. K. Port, and M. J. Kluger. 1985. Fever in uremia: production of leukocytic pyrogen by chronic dialysis patients. *Am. J. Kidney Dis*. 6:241-244.
143. Weinberg, E. D. 1974. Iron and susceptibility to infectious disease. *Science (New York, NY)*. 184:952.
144. Boelaert, J., R. Daneels, M. Schurgers, E. Matthys, B. Gordts, and H. Van Landuyt. 1990. Iron overload in haemodialysis patients increases the risk of bacteraemia: a prospective study. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 5:130.

BIBLIOGRAFÍA

145. Tielemans, C., C. Lenclud, R. Wens, F. Collart, and M. Dratwa. 1989. Critical role of iron overload in the increased susceptibility of haemodialysis patients to bacterial infections. Beneficial effects of desferrioxamine. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 4:883.
146. Sirken, G., R. Raja, and A. Rizkala. 2006. Association of different intravenous iron preparations with risk of bacteremia in maintenance hemodialysis patients. *Clin. Nephrol.* 66:348-356.
147. Brewster, U. C., S. G. Coca, R. F. Reilly, and M. A. Perazella. 2005. Effect of intravenous iron on haemodialysis catheter microbial colonization and blood-borne infection. *Nephrology*. 10:124-128.
148. Lee, O., J. D. Raque, L. J. Lee, W. Wivell, C. A. Block, and M. A. Bettmann. 2004. Retrospective assessment of risk factors to predict tunneled hemodialysis catheter outcome. *Journal of Vascular and Interventional Radiology*. 15:457-461.
149. Jean, G., B. Charra, C. Chazot, T. Vanel, J. Terrat, J. Hurot, and G. Laurent. 2000. Risk factor analysis for long-term tunneled dialysis catheter-related bacteremias. *Nephron*. 91:399-405.
150. Falagas, M. E., and M. Kompoti. 2006. Obesity and infection. *The Lancet Infectious Diseases*. 6:438-446.
151. Tokars, J. I., P. Light, J. Anderson, E. R. Miller, J. Parrish, N. Armistead, W. R. Jarvis, and T. Gehr. 2001. A prospective study of vascular access infections at seven outpatient hemodialysis centers. *American Journal of Kidney Diseases*. 37:1232-1240.
152. Kaplowitz, L. G., J. A. Comstock, D. M. Landwehr, H. P. Dalton, and C. G. Mayhall. 1988. A prospective study of infections in hemodialysis patients: patient hygiene and other risk factors for infection. *Infection Control and Hospital Epidemiology*. 534-541.
153. Mokrzycki, M. H., B. Schröppel, G. V. O. N. Gersdorff, H. Rush, M. P. Zdunek, and R. Feingold. 2000. Tunneled-cuffed catheter associated infections in hemodialysis patients who are seropositive for the human immunodeficiency virus. *Journal of the American Society of Nephrology*. 11:2122.
154. Mitchell, D., Z. Krishnasami, and M. Allon. 2006. Catheter-related bacteraemia in haemodialysis patients with HIV infection. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 21:3185-3188.

BIBLIOGRAFÍA

155. Sarnak, M. J., and B. L. Jaber. 2000. Mortality caused by sepsis in patients with end-stage renal disease compared with the general population. *Kidney Int.* 58:1758-1764.
156. Mermel LA. 2000. Prevention of intravascular catheter-related infections. *Ann. Intern. Med.* 132:391-402.
157. Sherertz, R. J., E. W. Ely, D. M. Westbrook, K. S. Gledhill, S. A. Streed, B. Kiger, L. Flynn, S. Hayes, S. Strong, and J. Cruz. 2000. Education of physicians-in-training can decrease the risk for vascular catheter infection. *Ann. Intern. Med.* 132:641-648.
158. Kretzer, E. K., and E. L. Larson. 1998. Behavioral interventions to improve infection control practices. *Am. J. Infect. Control.* 26:245-253.
159. Eggimann, P., S. Harbarth, M. N. Constantin, S. Touveneau, J. C. Chevrolet, and D. Pittet. 2000. Impact of a prevention strategy targeted at vascular-access care on incidence of infections acquired in intensive care. *The Lancet.* 355:1864-1868.
160. Yu, V. L., A. Goetz, M. Wagener, P. B. Smith, J. D. Rihs, J. Hanchett, and J. J. Zuravleff. 1986. Staphylococcus aureus nasal carriage and infection in patients on hemodialysis. *N. Engl. J. Med.* 315:91-96.
161. Vanholder, R., N. Hoenich, and S. Ringoir. 1987. Morbidity and mortality of central venous catheter hemodialysis: A review of 10 years' experience. *Nephron.* 47:274-279.
162. Chow, J. W., and V. L. Yu. 1989. Staphylococcus aureus nasal carriage in hemodialysis patients: its role in infection and approaches to prophylaxis. *Arch. Intern. Med.* 149:1258.
163. Ena, J., J. Boelaert, L. Boyken, H. Van Landuyt, C. Godard, and L. Herwaldt. 1994. Epidemiology of Staphylococcus aureus infections in patients on hemodialysis. *Infection Control and Hospital Epidemiology.* 78-81.
164. Goldblum, S., W. Reed, J. Ulrich, and R. Goldman. 1978. Staphylococcal carriage and infections in hemodialysis patients. *Dial Transplant.* 7:1140-1148.
165. Kairaitis, L. K., and T. Gottlieb. 1999. Outcome and complications of temporary haemodialysis catheters. *Nephrol. Dial. Transplant.* 14:1710-1714.
166. Zimakoff, J., F. B. Pedersen, L. Bergen, J. Baagř-Nielsen, B. Daldorph, F. Espersen, B. G. Hansen, N. Hřiby, O. Jepsen, and P. Joffe. 1996. Staphylococcus aureus carriage and infections among patients in four haemo-and peritoneal-dialysis centres in Denmark. *J. Hosp. Infect.* 33:289-300.

BIBLIOGRAFÍA

167. Boelaert, J., H. Van Landuyt, C. Godard, R. Daneels, M. Schurgers, E. Matthys, Y. De Baere, D. Gheyle, B. Gordts, and L. Herwaldt. 1993. Nasal mupirocin ointment decreases the incidence of *Staphylococcus aureus* bacteraemias in haemodialysis patients. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 8:235.
168. Stillman, R. M., F. Soliman, L. Garcia, and P. N. Sawyer. 1977. Etiology of catheter-associated sepsis: correlation with thrombogenicity. *Archives of Surgery*. 112:1497.
169. David, A., D. C. Risitano, G. Mazzeo, L. Sinardi, F. S. Venuti, and A. U. Sinardi. 2005. Central venous catheters and infections. *Minerva Anesthesiol*. 71:561-564.
170. Stewart, P. S., and J. William Costerton. 2001. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *The Lancet*. 358:135-138.
171. Jacobsson, G., S. Dashti, T. Wahlberg, and R. Andersson. 2007. The epidemiology of and risk factors for invasive *Staphylococcus aureus* infections in western Sweden. *Scand. J. Infect. Dis*. 39:6-13.
172. Betjes, M. G. H., and M. van Agteren. 2004. Prevention of dialysis catheter-related sepsis with a citrate-taurolidine-containing lock solution. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 19:1546.
173. Swartz, R. D., J. M. Messana, C. J. Boyer, N. M. Lunde, W. F. Weitzel, and T. L. Hartman. 1994. Successful use of cuffed central venous hemodialysis catheters inserted percutaneously. *Journal of the American Society of Nephrology*. 4:1719.
174. Christensen, G. D., A. L. Bisno, J. T. Parisi, B. McLaughlin, M. G. Hester, and R. W. Luther. 1982. Nosocomial septicemia due to multiply antibiotic-resistant *Staphylococcus epidermidis*. *Ann. Intern. Med*. 96:1.
175. Winston, D. J., D. V. Dudnick, M. Chapin, W. G. Ho, R. P. Gale, and W. J. Martin. 1983. Coagulase-negative staphylococcal bacteremia in patients receiving immunosuppressive therapy. *Arch. Intern. Med*. 143:32.
176. Sherertz, R. J., R. J. Falk, K. A. Huffman, C. A. Thomann, and W. D. Mattern. 1983. Infections associated with subclavian Uldall catheters. *Arch. Intern. Med*. 143:52.
177. Sattler, F. R., J. B. Foderaro, and R. C. Aber. 1984. *Staphylococcus epidermidis* bacteremia associated with vascular catheters: an important cause of febrile morbidity in hospitalized patients. *Infection Control*. 279-283.

BIBLIOGRAFÍA

178. Mermel, L. A., B. M. Fart, R. J. Sherertz, I. I. Raad, N. O'Grady, J. S. Harris, and D. E. Craven. 2001. Guidelines for the Management of Intravascular Catheter-Related Infections. *Clinical Infectious Diseases*. 32: 1249.
179. Seifert, H. 1997. Catheter related infections due to gram negative bacilli. *Catheter Related Infections*.
180. Kovalik, E. C., J. R. Raymond, F. J. Albers, M. Berkoben, D. W. Butterly, B. Montella, and P. J. Conlon. 1996. A clustering of epidural abscesses in chronic hemodialysis patients: risks of salvaging access catheters in cases of infection. *Journal of the American Society of Nephrology*. 7:2264.
181. Kovalik, E. C., and S. J. Schwab. 2002. Treatment approaches for infected hemodialysis vascular catheters. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens*. 11:593.
182. Poole, C. V., D. Carlton, L. Bimbo, and M. Allon. 2004. Treatment of catheter-related bacteraemia with an antibiotic lock protocol: effect of bacterial pathogen. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 19:1237.
183. Krishnasami, Z., D. Carlton, L. Bimbo, M. E. Taylor, D. F. Balkovetz, J. Barker, and M. Allon. 2002. Management of hemodialysis catheter-related bacteremia with an adjunctive antibiotic lock solution. *Kidney Int*. 61:1136-1142.
184. Krzywda, E. A., D. A. Andris, C. E. Edmiston Jr, and E. J. Quebbeman. 1995. Treatment of Hickman catheter sepsis using antibiotic lock technique. *Infection Control and Hospital Epidemiology*. 596-598.
185. Engelhard, D., H. Elishoov, N. Strauss, E. Naparstek, A. Nagler, A. Simhon, D. Raveh, S. Slavin, and R. Or. 1996. Nosocomial coagulase-negative staphylococcal infections in bone marrow transplantation recipients with central vein catheter: A 5-year prospective study. *Transplantation*. 61:430.
186. Mehall, J. R., D. A. Saltzman, R. J. Jackson, and S. D. Smith. 2002. Fibrin sheath enhances central venous catheter infection. *Crit. Care Med*. 30:908.
187. Donlan, R. M., and J. W. Costerton. 2002. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin. Microbiol. Rev*. 15:167-193.
188. Hawser SP, D. L. 1994. Biofilm formation by *Candida* species on the surface of cathetermaterials in vitro. *Infect Immun*. 62:915-21.
189. Southwell-Keely, J., R. R. Russo, L. March, R. Cumming, I. Cameron, and A. J. M. Brnabic. 2004. Antibiotic prophylaxis in hip fracture surgery: a metaanalysis. *Clin Orthop Relat Res*. 179-184.

BIBLIOGRAFÍA

190. Costerton, J. W., K. Cheng, G. G. Geesey, T. I. Ladd, J. C. Nickel, M. Dasgupta, and T. J. Marrie. 1987. Bacterial biofilms in nature and disease. *Annual Reviews in Microbiology*. 41:435-464.
191. Salzman, M. B., and L. G. Rubin. 1997. Relevance of the catheter hub as a portal for microorganisms causing catheter-related bloodstream infections. *Nutrition*. 13:15S-17S.
192. Cercenado, E., J. Ena, M. Rodríguez-Créixems, I. Romero, and E. Bouza. 1990. A conservative procedure for the diagnosis of catheter-related infections. *Arch. Intern. Med.* 150:1417-1420..
193. Liñares, J., A. Sitges-Serra, J. Garau, Pérez J.L., and R. Martín. 1985. Pathogenesis of catheter sepsis: a prospective study with quantitative and semiquantitative cultures of catheter hub and segments. *J. Clin. Microbiol.* 21:357-360.
194. Sherertz, R. J., S. O. Heard, and I. I. Raad. 1997. Diagnosis of triple-lumen catheter infection: comparison of roll plate, sonication, and flushing methodologies. *J. Clin. Microbiol.* 35:641.
195. Cooper, G. L., A. Schiller, and C. C. Hopkins. 1988. Possible role of capillary action in pathogenesis of experimental catheter-associated dermal tunnel infections. *J. Clin. Microbiol.* 26:8-12.
196. Maki, D. 1989. Pathogenesis, prevention and management of infections due to intravascular devices used for infusion therapy. *Infections Associated with Indwelling Medical Devices*. Washington, DC: American Society for Microbiology. 171:.
197. Bouza, E., J. Liñares, and A. Pascual. 2004. Diagnóstico microbiológico de las infecciones asociadas a catéteres intravasculares. *Procedimientos En Microbiología Clínica. Recomendaciones De La Sociedad Española De Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*.
198. Anaissie, E., G. Samonis, D. Kontoyiannis, J. Costerton, U. Sabharwal, G. Bodey, and I. Raad. 1995. Role of catheter colonization and infrequent hematogenous seeding in catheter-related infections. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 14:134-137.
199. Raad, I. I., R. O. Darouiche, R. Hachem, D. Abi-Said, H. Safar, T. Darnule, M. Mansouri, and D. Morck. 1998. Antimicrobial durability and rare ultrastructural colonization of indwelling central catheters coated with minocycline and rifampin. *Crit. Care Med.* 26:219.

BIBLIOGRAFÍA

200. Donlan, R. M. 2001. Biofilms and device-associated infections. *Emerging Infectious Diseases*. 7:277.
201. Donlan, R. M. 2001. Biofilm formation: a clinically relevant microbiological process. *Clinical Infectious Diseases*. 33:1387-1392.
202. Kanaa, M., M. Wright, and J. Sandoe. 2010. Examination of tunnelled haemodialysis catheters using scanning electron microscopy. *Clinical Microbiology and Infection*. 16:780-786.
203. Kite, P., B. Dobbins, M. Wilcox, W. Fawley, A. Kindon, D. Thomas, M. Tighe, and M. McMahon. 1997. Evaluation of a novel endoluminal brush method for in situ diagnosis of catheter related sepsis. *J. Clin. Pathol.* 50:278.
204. Rello, J., J. M. Gatell, J. Almirall, J. M. Campistol, J. Gonzalez, and I. B. Puig de. 1989. Evaluation of culture techniques for identification of catheter-related infection in hemodialysis patients. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 8:620-622.
205. Raad, I. I., M. F. Sabbagh, K. H. Rand, and R. J. Sherertz. 1992. Quantitative tip culture methods and the diagnosis of central venous catheter-related infections. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 15:13-20.
206. Safdar, N., J. P. Fine, and D. G. Maki. 2005. Meta-analysis: methods for diagnosing intravascular device-related bloodstream infection. *Ann. Intern. Med.* 142:451-466.
207. Boelens, J., J. Dankert, J. Murk, J. Weening, T. Van der Poll, K. Dingemans, L. Koole, J. Laman, and S. Zaat. 2000. Biomaterial-associated persistence of *Staphylococcus epidermidis* in pericatheter macrophages. *J. Infect. Dis.* 181:1337-1349.
208. Costerton, J. W., Z. Lewandowski, D. E. Caldwell, D. R. Korber, and H. M. Lappin-Scott. 1995. Microbial biofilms. *Annual Reviews in Microbiology*. 49:711-745.
209. Adeniyi, O. A., and A. H. Tzamaloukas. 2003. Relation between access-related Infection and preinfection serum albumin concentration in patients on chronic hemodialysis. *Hemodial Int.* 7:304-310.
210. Yu, J., M. N. Montelius, M. Paulsson, I. Gouda, O. Larm, L. Montelius, and A. Ljungh. 1994. Adhesion of coagulase-negative staphylococci and adsorption of plasma proteins to heparinized polymer surfaces. *Biomaterials*. 15:805-814.
211. Vila, J., A. Soriano, and J. Mensa. 2008. Molecular basis of microbial adherence to prosthetic materials. Role of biofilms in prosthesis-associated infection. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 26:48-54.

BIBLIOGRAFÍA

212. Costerton, J. W., P. S. Stewart, and E. P. Greenberg. 1999. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*. 284:1318-1322.
213. Ceri, H., M. Olson, C. Stremick, R. Read, D. Morck, and A. Buret. 1999. The Calgary Biofilm Device: new technology for rapid determination of antibiotic susceptibilities of bacterial biofilms. *J. Clin. Microbiol.* 37:1771-1776.
214. Raad, I., and H. Hanna. 1999. Intravascular catheters impregnated with antimicrobial agents: a milestone in the prevention of bloodstream infections. *Supportive Care in Cancer*. 7:386-390.
215. Williams, I., W. A. Venables, D. Lloyd, F. Paul, and I. Critchley. 1997. The effects of adherence to silicone surfaces on antibiotic susceptibility in *Staphylococcus aureus*. *Microbiology*. 143:2407-2413.
216. Weijmer, M. C., Y. J. Debets-Ossenkopp, F. J. Van De Vondervoort, and P. M. Ter Wee. 2002. Superior antimicrobial activity of trisodium citrate over heparin for catheter locking. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 17:2189-2195.
217. Hoyle, B. D., J. Alcantara, and J. W. Costerton. 1992. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm as a diffusion barrier to piperacillin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 36:2054-2056.
218. Del Pozo, J., and R. Patel. 2007. The challenge of treating biofilm-associated bacterial infections. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 82:204-209.
219. Davey, M. E., and G. A. O'toole. 2000. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 64:847-867.
220. Mah, T. F. C., and G. A. O'Toole. 2001. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends Microbiol.* 9:34-39.
221. Chen, X., S. Schauder, N. Potier, A. Van Dorsselaer, I. Pelczer, B. L. Bassler, and F. M. Hughson. 2002. Structural identification of a bacterial quorum-sensing signal containing boron. *Nature*. 415:545-549.
222. Fux, C., J. Costerton, P. Stewart, and P. Stoodley. 2005. Survival strategies of infectious biofilms. *Trends Microbiol.* 13:34-40.
223. Curtin, J., M. Cormican, G. Fleming, J. Keelehan, and E. Colleran. 2003. Linezolid compared with eperezolid, vancomycin, and gentamicin in an in vitro model of antimicrobial lock therapy for *Staphylococcus epidermidis* central venous catheter-related biofilm infections. *Antimicrob. Agents Chemother.* 47:3145.

BIBLIOGRAFÍA

224. Gagnon, R. F., G. K. Richards, and G. B. Kostiner. 1994. Time-kill efficacy of antibiotics in combination with rifampin against *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Advances in peritoneal dialysis*. 10:189-189.
225. Huebner, J., and D. A. Goldmann. 1999. Coagulase-negative staphylococci: role as pathogens. *Annu. Rev. Med.* 50:223-236.
226. Baldassarri, L., G. Donnelly, A. Gelosia, M. C. Voglino, A. W. Simpson, and G. D. Christensen. 1996. Purification and characterization of the staphylococcal slime-associated antigen and its occurrence among *Staphylococcus epidermis* clinical isolates. *Infect. Immun.* 64:3410-3415.
227. Deighton, M. A., R. Borland, and J. A. Capstick. 1996. Virulence of *Staphylococcus epidermidis* in a mouse model: significance of extracellular slime. *Epidemiol. Infect.* 117:267-280.
228. Ziebuhr, W., V. Krimmer, S. Rachid, I. Lössner, F. Götz, and J. Hacker. 1999. A novel mechanism of phase variation of virulence in *Staphylococcus epidermidis*: evidence for control of the polysaccharide intercellular adhesin synthesis by alternating insertion and excision of the insertion sequence element IS256. *Mol. Microbiol.* 32:345-356.
229. von Eiff, C., G. Peters, and C. Heilmann. 2002. Pathogenesis of infections due to coagulase-negative staphylococci. *Lancet Infect Dis.* 2:677-685.
230. Vandecasteele, S. J., W. E. Peetermans, R. Merckx R., B. J. A. Rijnders, and J. Van Eldere. 2003. Reliability of the *ica*, *aap* and *atlE* genes in the discrimination between invasive, colonizing and contaminant *Staphylococcus epidermidis* isolates in the diagnosis of catheter-related infections. *Clin. Microbiol. Infect.* 9:114-119.
231. Otto, M. 2004. Virulence factors of the coagulase-negative staphylococci. *Frontiers in Bioscience*. 9:841-863.
232. Rohde, H., D. Mack, M. Christner, C. Burdelski, G. Franke, and J. K. M. Knobloch. 2006. Pathogenesis of staphylococcal device-related infections: from basic science to new diagnostic, therapeutic and prophylactic approaches. *Rev. Med. Microbiol.* 17:45.
233. Heilmann, C., O. Schweitzer, C. Gerke, N. Vanittanakom, D. Mack, and F. Götz. 1996. Molecular basis of intercellular adhesion in the biofilm-forming *Staphylococcus epidermidis*. *Mol. Microbiol.* 20:1083-1091.

BIBLIOGRAFÍA

234. Mack, D., W. Fischer, A. Krokotsch, K. Leopold, R. Hartmann, H. Egge, and R. Laufs. 1996. The intercellular adhesin involved in biofilm accumulation of *Staphylococcus epidermidis* is a linear beta-1,6-linked glucosaminoglycan: purification and structural analysis. *J. Bacteriol.* 178:175-83.
235. Mack, D., H. Rohde, L. G. Harris, A. P. Davies, M. A. Horstkotte, and J. K. Knobloch. 2006. Biofilm formation in medical device-related infection. *Int. J. Artif. Organs.* 29:343-359.
236. Vaudaux, P., D. Pittet, A. Haeberli, P. G. Lerch, J. J. Morgenthaler, R. A. Proctor, F. A. Waldvogel, and D. P. Lew. 1993. Fibronectin is more active than fibrin or fibrinogen in promoting *Staphylococcus aureus* adherence to inserted intravascular catheters. *J. Infect. Dis.* 167:633.
237. Huesca, M., Q. Sun, R. Peralta, G. M. Shivji, D. N. Sauder, and M. J. McGavin. 2000. Synthetic Peptide Immunogens Elicit Polyclonal and Monoclonal Antibodies Specific for Linear Epitopes in the D Motifs of *Staphylococcus aureus* Fibronectin-Binding Protein, Which Are Composed of Amino Acids That Are Essential for Fibronectin Binding. *Infect. Immun.* 68:1156-1163.
238. Davies, D. G., M. R. Parsek, J. P. Pearson, B. H. Iglewski, J. Costerton, and E. Greenberg. 1998. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. *Science.* 280:295.
239. Olson, M. E., K. L. Garvin, P. D. Fey, and M. E. Rupp. 2006. Adherence of *Staphylococcus epidermidis* to biomaterials is augmented by PIA. *Clin Orthop Relat Res.* 451:21-24.
240. Gerke, C., A. Kraft, R. Süssmuth, O. Schweitzer, and F. Götz. 1998. Characterization of the N-acetylglucosaminyltransferase activity involved in the biosynthesis of the *Staphylococcus epidermidis* polysaccharide intercellular adhesin. *J. Biol. Chem.* 273:18586-93.
241. Conlon, K. M., H. Humphreys, and J. P. O'Gara. 2002. IcaR Encodes a Transcriptional Repressor Involved in Environmental Regulation of ica Operon Expression and Biofilm Formation in *Staphylococcus epidermidis*. *J. Bacteriol.* 184:4400.
242. Knobloch, J. K. -, S. Jäger, M. A. Horstkotte, H. Rohde, and D. Mack. 2004. RsbU-dependent regulation of *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation is mediated via the alternative sigma factor sigmaB by repression of the negative regulator gene icaR. *Infect. Immun.* 72:3838-48.

BIBLIOGRAFÍA

243. De Silva, G., M. Kantzanou, A. Justice, R. Massey, A. Wilkinson, N. Day, and S. Peacock. 2002. The *ica* operon and biofilm production in coagulase-negative staphylococci associated with carriage and disease in a neonatal intensive care unit. *J. Clin. Microbiol.* 40:382.
244. Petrelli, D., C. Zampaloni, S. D'Ercole, M. Prenna, P. Ballarini, S. Ripa, and L. A. Vitali. 2006. Analysis of different genetic traits and their association with biofilm formation in *Staphylococcus epidermidis* isolates from central venous catheter infections. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 25:773-781.
245. Cafiso, V., T. Bertuccio, M. Santagati, F. Campanile, G. Amicosante, M. G. Perilli, L. Selan, M. Artini, G. Nicoletti, and S. Stefani. 2004. Presence of the *ica* operon in clinical isolates of *Staphylococcus epidermidis* and its role in biofilm production. *Clin. Microbiol. Infect.* 10:1081-1088.
246. Penny Sr, R. B. 1972. Excessive production of mucoid substance in staphylococcus SIIA: a possible factor in colonisation of Holter shunts. *Developmental Medicine & Child Neurology.* 14:25-28.
247. Peters, G., R. Locci, and G. Pulverer. 1982. Adherence and growth of coagulase-negative staphylococci on surfaces of intravenous catheters. *J. Infect. Dis.* 146:479.
248. Younger, J. J., G. D. Christensen, D. L. Bartley, J. C. H. Simmons, and F. F. Barrett. 1987. Coagulase-negative staphylococci isolated from cerebrospinal fluid shunts: importance of slime production, species identification, and shunt removal to clinical outcome. *J. Infect. Dis.* 156:548-554.
249. Marrie, T. J., J. Nelligan, and J. Costerton. 1982. A scanning and transmission electron microscopic study of an infected endocardial pacemaker lead. *Circulation.* 66:1339-1341.
250. Beard-Pegler, M., C. Gabelish, E. Stubbs, C. Harbour, J. Robson, M. Falk, R. Benn, and A. Vickery. 1989. Prevalence of peritonitis-associated coagulase-negative staphylococci on the skin of continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Epidemiol. Infect.* 102:365.
251. Baddour, L. M., D. L. Smalley, A. P. Kraus Jr, W. J. Lamoreaux, and G. D. Christensen. 1986. Comparison of microbiologic characteristics of pathogenic and saprophytic coagulase-negative staphylococci from patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 5:197-205.
252. Mitoma, F. D., G. K. M. Harding, D. J. Hoban, R. S. Roberts, and D. E. Low. 1987. Clinical significance of a test for slime production in ventriculoperitoneal shunt infections caused by coagulase-negative staphylococci. *J. Infect. Dis.* 156:555-560.

BIBLIOGRAFÍA

253. O'Gara, J. P., and H. Humphreys. 2001. *Staphylococcus epidermidis* biofilms: importance and implications. *J. Med. Microbiol.* 50:582.
254. Ziebuhr, W., C. Heilmann, F. Götz, P. Meyer, K. Wilms, E. Straube, and J. Hacker. 1997. Detection of the intercellular adhesion gene cluster (*ica*) and phase variation in *Staphylococcus epidermidis* blood culture strains and mucosal isolates. *Infect. Immun.* 65:890-896.
255. Frebourg, N. B., S. Lefebvre, S. Baert, and J. F. Lemeland. 2000. PCR-based assay for discrimination between invasive and contaminating *Staphylococcus epidermidis* strains. *J. Clin. Microbiol.* 38:877.
256. Rohde, H., M. Kalitzky, N. Kröger, S. Scherpe, M. A. Horstkotte, J. K. Knobloch, A. R. Zander, and D. Mack. 2004. Detection of virulence-associated genes not useful for discriminating between invasive and commensal *Staphylococcus epidermidis* strains from a bone marrow transplant unit. *J. Clin. Microbiol.* 42:5614-5619.
257. Arciola, C. R., S. Gamberini, D. Campoccia, L. Visai, P. Speziale, L. Baldassarri, and L. Montanaro. 2005. A multiplex PCR method for the detection of all five individual genes of *ica* locus in *Staphylococcus epidermidis*. A survey on 400 clinical isolates from prosthesis-associated infections. *J Biomed Mater Res A.* 75:408-413.
258. Galdart, J. O., J. Allignet, H. S. Tung, C. Rydén, and N. El Solh. 2000. Screening for *Staphylococcus epidermidis* markers discriminating between skin-flora strains and those responsible for infections of joint prostheses. *J. Infect. Dis.* 182:351-355.
259. Rohde, H., E. C. Burandt, N. Siemssen, L. Frommelt, C. Burdelski, S. Wurster, S. Scherpe, A. P. Davies, L. G. Harris, M. A. Horstkotte, J. K. -. Knobloch, C. Ragunath, J. B. Kaplan, and D. Mack. 2007. Polysaccharide intercellular adhesin or protein factors in biofilm accumulation of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* isolated from prosthetic hip and knee joint infections. *Biomaterials.* 28:1711-1720.
260. Frank, K. L., and R. Patel. 2007. Poly-N-acetylglucosamine is not a major component of the extracellular matrix in biofilms formed by *ica*ADBC-positive *Staphylococcus lugdunensis* isolates. *Infect. Immun.* 75:4728-4742.
261. Monk, A. B., S. Boundy, V. H. Chu, J. C. Bettinger, J. R. Robles, V. G. Fowler Jr, and G. L. Archer. 2008. Analysis of the genotype and virulence of *Staphylococcus epidermidis* isolates from patients with infective endocarditis. *Infect. Immun.* 76:5127-5132.

BIBLIOGRAFÍA

262. Klug, D., F. Wallet, S. Kacet, and R. J. Courcol. 2003. Involvement of adherence and adhesion *Staphylococcus epidermidis* genes in pacemaker lead-associated infections. *J. Clin. Microbiol.* 41:3348-3350.
263. Zhang, Y. Q., S. X. Ren, H. L. Li, Y. X. Wang, G. Fu, J. Yang, Z. Q. Qin, Y. G. Miao, W. Y. Wang, and R. S. Chen. 2003. Genome-based analysis of virulence genes in a non-biofilm-forming *Staphylococcus epidermidis* strain (ATCC 12228). *Mol. Microbiol.* 49:1577-1593.
264. Li, H., L. Xu, J. Wang, Y. Wen, C. Vuong, M. Otto, and Q. Gao. 2005. Conversion of *Staphylococcus epidermidis* strains from commensal to invasive by expression of the *ica* locus encoding production of biofilm exopolysaccharide. *Infect. Immun.* 73:3188.
265. Yao, Y., D. E. Sturdevant, A. Villaruz, L. Xu, Q. Gao, and M. Otto. 2005. Factors characterizing *Staphylococcus epidermidis* invasiveness determined by comparative genomics. *Infect. Immun.* 73:1856.
266. Rupp, M. E., J. S. Ulphani, P. D. Fey, K. Bartscht, and D. Mack. 1999. Characterization of the importance of polysaccharide intercellular adhesin/hemagglutinin of *Staphylococcus epidermidis* in the pathogenesis of biomaterial-based infection in a mouse foreign body infection model. *Infect. Immun.* 67:2627-2632.
267. Rupp, M. E., J. S. Ulphani, P. D. Fey, and D. Mack. 1999. Characterization of *Staphylococcus epidermidis* polysaccharide intercellular adhesin/hemagglutinin in the pathogenesis of intravascular catheter-associated infection in a rat model. *Infect. Immun.* 67:2656-2659.
268. Rupp, M. E., and G. L. Archer. 1994. Coagulase-negative staphylococci: pathogens associated with medical progress. *Clinical Infectious Diseases.* 231-243.
269. Rupp, M. E., P. D. Fey, C. Heilmann, and F. Götz. 2001. Characterization of the importance of *Staphylococcus epidermidis* autolysin and polysaccharide intercellular adhesin in the pathogenesis of intravascular catheter-associated infection in a rat model. *J. Infect. Dis.* 183:1038-1042.
270. Silva, G. D. I., M. Kantzanou, A. Justice, R. C. Massey, A. R. Wilkinson, N. P. J. Day, and S. J. Peacock. 2002. The *ica* operon and biofilm production in coagulase-negative *Staphylococci* associated with carriage and disease in a neonatal intensive care unit. *J. Clin. Microbiol.* 40:382-8.
271. Frank, K. L., A. D. Hanssen, and R. Patel. 2004. *icaA* is not a useful diagnostic marker for prosthetic joint infection. *J. Clin. Microbiol.* 42:4846-9.

BIBLIOGRAFÍA

272. Arciola, C. R., D. Campoccia, S. Gamberini, S. Rizzi, M. E. Donati, L. Baldassarri, and L. Montanaro. 2004. Search for the insertion element IS256 within the *ica* locus of *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates collected from biomaterial-associated infections. *Biomaterials*. 25:4117-4125.
273. Bradford, R., R. Abdul Manan, A. J. Daley, C. Pearce, A. Ramalingam, D. D'Mello, Y. Mueller, W. Uahwatanasakul, Y. Qu, D. Grando, S. Garland, and M. Deighton. 2006. Coagulase-negative staphylococci in very-low-birth-weight infants: inability of genetic markers to distinguish invasive strains from blood culture contaminants. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 25:283-290.
274. Arciola, C. R., D. Campoccia, L. Baldassarri, M. E. Donati, V. Pirini, S. Gamberini, and L. Montanaro. 2006. Detection of biofilm formation in *Staphylococcus epidermidis* from implant infections. Comparison of a PCR-method that recognizes the presence of *ica* genes with two classic phenotypic methods. *J Biomed Mater Res A*. 76:425-430.
275. Chaieb, K., K. Mahdouani, and A. Bakhrouf. 2005. Detection of *icaA* and *icaD* loci by polymerase chain reaction and biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis* isolated from dialysate and needles in a dialysis unit. *J. Hosp. Infect.* 61:225-230.
276. Koskela, A., Å. Nilsson-Augustinsson, L. Persson, and B. Söderquist. 2009. Prevalence of the *ica* operon and insertion sequence IS256 among *Staphylococcus epidermidis* prosthetic joint infection isolates. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 28:655-660.
277. Klingenberg, C., E. Aarag, A. Rønnestad, J. E. Sollid, T. G. Abrahamsen, G. Kjeldsen, and T. Flaegstad. 2005. Coagulase-negative staphylococcal sepsis in neonates. Association between antibiotic resistance, biofilm formation and the host inflammatory response. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 24:817-822.
278. Nilsson-Augustinsson, Å., A. Koskela, L. Öhman, and B. Söderquist. 2007. Characterization of coagulase-negative staphylococci isolated from patients with infected hip prostheses: use of phenotypic and genotypic analyses, including tests for the presence of the *ica* operon. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 26:255-265.
279. Arciola, C. R., D. Campoccia, S. Gamberini, M. E. Donati, V. Pirini, L. Visai, P. Speziale, and L. Montanaro. 2005. Antibiotic resistance in exopolysaccharide-forming *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates from orthopaedic implant infections. *Biomaterials*. 26:6530-6535.
280. Kozitskaya, S., S. Cho, K. Dietrich, R. Marre, K. Naber, and W. Ziebuhr. 2004. The bacterial insertion sequence element IS256 occurs preferentially in nosocomial

BIBLIOGRAFÍA

Staphylococcus epidermidis isolates: association with biofilm formation and resistance to aminoglycosides. *Infect. Immun.* 72:1210-5.

281. Cho, S., K. Naber, J. Hacker, and W. Ziebuhr. 2002. Detection of the *icaADBC* gene cluster and biofilm formation in *Staphylococcus epidermidis* isolates from catheter-related urinary tract infections. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 19:570-575.

282. Montanaro, L., D. Campoccia, V. Pirini, S. Ravaoli, M. Otto, and C. R. Arciola. 2007. Antibiotic multiresistance strictly associated with IS256 and *ica* genes in *Staphylococcus epidermidis* strains from implant orthopedic infections. *Journal of Biomedical Materials Research Part A.* 83:813-818.

283. Delgado, S., R. Arroyo, E. Jiménez, M. Marín, R. Del Campo, L. Fernández, and J. Rodríguez. 2009. *Staphylococcus epidermidis* strains isolated from breast milk of women suffering infectious mastitis: potential virulence traits and resistance to antibiotics. *BMC Microbiology.* 9:82.

284. Diemond-Hernández, B., F. Solórzano-Santos, B. Leños-Miranda, L. Peregrino-Bejarano, and G. Miranda-Novales. 2010. Production of *icaADBC*-encoded polysaccharide intercellular adhesin and therapeutic failure in pediatric patients with staphylococcal device-related infections. *BMC Infectious Diseases.* 10:68.

285. Fitzpatrick, F., H. Humphreys, and J. P. O'Gara. 2005. Evidence for *icaADBC*-Independent Biofilm Development Mechanism in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Clinical Isolates. *J. Clin. Microbiol.* 43:1973-1976.

286. Qin, Z., X. Yang, L. Yang, J. Jiang, Y. Ou, S. Molin, and D. Qu. 2007. Formation and properties of in vitro biofilms of *ica*-negative *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates. *J. Med. Microbiol.* 56:83-93.

287. Toledo-Arana, A., N. Merino, M. Vergara-Irigaray, M. Debarbouille, J. R. Penades, and I. Lasa. 2005. *Staphylococcus aureus* develops an alternative, *ica*-independent biofilm in the absence of the *arlRS* two-component system. *J. Bacteriol.* 187:5318.

288. Byrne, M. E., D. A. Rouch, and R. A. Skurray. 1989. Nucleotide sequence analysis of IS256 from the *Staphylococcus aureus* gentamicin-tobramycin-kanamycin-resistance transposon Tn4001. *Gene.* 81:361-367.

289. Dyke, KG, S. Aubert, and N. el Solh. 1992. Multiple copies of IS256 in staphylococci. *Plasmid* 1992;28:235—246. *Plasmid.* 28:235-246.

290. Rice, L. B., and A. S. Thorisdottir. 1994. The prevalence of sequences homologous to IS256 in clinical enterococcal isolates. *Plasmid.* 32:344-349.

BIBLIOGRAFÍA

291. Mack, D., H. Rohde, S. Dobinsky, J. Riedewald, M. Nedelmann, J. K. M. Knobloch, H. A. Elsner, and H. H. Feucht. 2000. Identification of three essential regulatory gene loci governing expression of *Staphylococcus epidermidis* polysaccharide intercellular adhesin and biofilm formation. *Infect. Immun.* 68:3799.
292. Cramton, S. E., M. Ulrich, F. Gotz, and G. Doring. 2001. Anaerobic conditions induce expression of polysaccharide intercellular adhesin in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Infect. Immun.* 69:4079.
293. Gu, J., H. Li, M. Li, C. Vuong, M. Otto, Y. Wen, and Q. Gao. 2005. Bacterial insertion sequence IS256 as a potential molecular marker to discriminate invasive strains from commensal strains of *Staphylococcus epidermidis*. *J. Hosp. Infect.* 61:342-348.
294. Kozitskaya, S., M. E. Olson, P. D. Fey, W. Witte, K. Ohlsen, and W. Ziebuhr. 2005. Clonal analysis of *Staphylococcus epidermidis* isolates carrying or lacking biofilm-mediating genes by multilocus sequence typing. *J. Clin. Microbiol.* 43:4751.
295. Catton, J. A., B. M. Dobbins, P. Kite, J. M. Wood, K. Eastwood, S. Sugden, J. A. T. Sandoe, D. Burke, M. J. McMahon, and M. H. Wilcox. 2005. In situ diagnosis of intravascular catheter-related bloodstream infection: a comparison of quantitative culture, differential time to positivity, and endoluminal brushing. *Crit. Care Med.* 33:787-791.
296. León, C., E. Bouza, C. Fariñas, J. Fortún, E. García Sánchez, J. Liñares, P. Llinares, E. Maseda, J. Rodríguez-Baño, and Ó. Rodríguez. 2007. Update on vascular catheter-related infections. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.* 25:37-46.
297. Blot, F., G. Nitenberg, E. Chachaty, B. Raynard, N. Germann, S. Antoun, A. Laplanche, C. Brun-Buisson, and C. Tancrede. 1999. Diagnosis of catheter-related bacteraemia: a prospective comparison of the time to positivity of hub-blood versus peripheral-blood cultures. *Lancet.* 354:1071-1077.
298. Cleri, D. J., M. L. Corrado, and S. J. Seligman. 1980. Quantitative culture of intravenous catheters and other intravascular inserts. *J. Infect. Dis.* 141:781-786.
299. Collignon, P., and R. Munro. 1989. Laboratory diagnosis of intravascular catheter associated sepsis. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases.* 8:807-814.
300. Goldmann, D., and G. Pier. 1993. Pathogenesis of infections related to intravascular catheterization. *Clin. Microbiol. Rev.* 6:176.

BIBLIOGRAFÍA

301. Maki, D. G., C. E. Weise, and H. W. Sarafin. 1977. A semiquantitative culture method for identifying intravenous-catheter-related infection. *N. Engl. J. Med.* 296:1305-1309.
302. Bouza, E., N. Alvarado, L. Alcalá, M. J. Pérez, C. Rincón, and P. Muñoz. 2007. A randomized and prospective study of 3 procedures for the diagnosis of catheter-related bloodstream infection without catheter withdrawal. *Clinical Infectious Diseases.* 44:820.
303. Sociedad Española de Quimioterapia, Sociedad Española de Oncología Médica y. 2003. Tratamiento de las infecciones relacionadas con catéteres venosos de larga duración. *Rev Esp Quimioterap.* 16(3):343-60.
304. Druskin, M. S., and P. D. Siegel. 1963. Bacterial contamination of indwelling intravenous polyethylene catheters. *JAMA: The Journal of the American Medical Association.* 185:966.
305. Collignon, P. J., N. Soni, I. Y. Pearson, W. P. Woods, R. Munro, and T. C. Sorrell. 1986. Is semiquantitative culture of central vein catheter tips useful in the diagnosis of catheter-associated bacteremia? *J. Clin. Microbiol.* 24:532-535.
306. Rello, J., P. Coll, and G. Prats. 1991. Laboratory diagnosis of catheter-related bacteremia. *Scand. J. Infect. Dis.* 23:583-588.
307. Gutiérrez, J., C. Leon, R. Matamoros, C. Nogales, and E. Martín. 1992. Catheter-related bacteremia and fungemia. Reliability of two methods for catheter culture. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 15:575-578.
308. Widmer, A. F., M. Nettleman, K. Flint, and R. P. Wenzel. 1992. The clinical impact of culturing central venous catheters. A prospective study. *Arch. Intern. Med.* 152:1299-1302.
309. Aufwerber, E., S. Ringertz, and U. Ransjö. 1991. Routine semiquantitative cultures and central venous catheter-related bacteremia. *APMIS.* 99:627-630.
310. Brun-Buisson, C., F. Abrouk, P. Legrand, Y. Huet, S. Larabi, and M. Rapin. 1987. Diagnosis of central venous catheter-related sepsis: critical level of quantitative tip cultures. *Arch. Intern. Med.* 147:873.
311. Sherertz, R., I. Raad, A. Belani, L. Koo, K. Rand, D. Pickett, S. Straub, and L. Fauerbach. 1990. Three-year experience with sonicated vascular catheter cultures in a clinical microbiology laboratory. *J. Clin. Microbiol.* 28:76.

BIBLIOGRAFÍA

312. Cooper, G. L., and C. C. Hopkins. 1985. Rapid diagnosis of intravascular catheter-associated infection by direct Gram staining of catheter segments. *N. Engl. J. Med.* 312:1142-1147.
313. Zufferey, J., B. Rime, P. Francioli, and J. Bille. 1988. Simple method for rapid diagnosis of catheter-associated infection by direct acridine orange staining of catheter tips. *J. Clin. Microbiol.* 26:175.
314. Spencer, R. C., and K. G. Kristinsson. 1986. Failure to diagnose intravascular-associated infection by direct Gram staining of catheter segments. *J. Hosp. Infect.* 7:305-306.
315. Hanna, R., and I. I. Raad. 2005. Diagnosis of catheter-related bloodstream infection. *Curr. Infect. Dis. Rep.* 7:413-419.
316. Fortún, J., J. Perez-Molina, A. Asensio, C. Calderón, J. L. Casado, N. Mir, A. Moreno, and A. Guerrero. 2000. Semiquantitative culture of subcutaneous segment for conservative diagnosis of intravascular catheter-related infection. *JPEN J. Parenter. Enteral Nutr.* 24:210-214.
317. Nielsen, J., H. J. Kolmos, and V. T. Rosdahl. 1998. Poor value of surveillance cultures for prediction of septicaemia caused by coagulase-negative staphylococci in patients undergoing haemodialysis with central venous catheters. *Scand. J. Infect. Dis.* 30:569-572.
318. Rosenbaum, D., J. M. MacRae, O. Djurdjev, A. Levin, R. Werb, and M. Kiaii. 2006. Surveillance cultures of tunneled cuffed catheter exit sites in chronic hemodialysis patients are of no benefit. *Hemodial Int.* 10:365-370.
319. León, M., M. Garcia, M. Herranz, V. Gonzalez, A. Martinez, F. Castillo, E. Andres, C. Leon, and J. Huet. 1998. Diagnostic value of Gram staining of peri-catheter skin and the connection in the prediction of intravascular-catheter-related bacteremia. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.* 16:214.
320. Safdar, N., and D. G. Maki. 2002. Inflammation at the insertion site is not predictive of catheter-related bloodstream infection with short-term, noncuffed central venous catheters*. *Crit. Care Med.* 30:2632.
321. Atela, I., P. Coll, J. Rello, E. Quintana, J. Barrio, F. March, F. Sanchez, P. Barraquer, J. Ballus, and A. Cotura. 1997. Serial surveillance cultures of skin and catheter hub specimens from critically ill patients with central venous catheters: molecular epidemiology of infection and implications for clinical management and research. *J. Clin. Microbiol.* 35:1784-1790.

BIBLIOGRAFÍA

322. Walshe, L. J., S. F. Malak, J. Eagan, and K. A. Sepkowitz. 2002. Complication rates among cancer patients with peripherally inserted central catheters. *Journal of Clinical Oncology*. 20:3276-3281.
323. Rushforth, J. A., C. M. Hoy, P. Kite, and J. W. Puntis. 1993. Rapid diagnosis of central venous catheter sepsis. *Lancet*. 342:402-403.
324. Tighe, M. J., P. Kite, D. Thomas, W. N. Fawley, and M. J. McMahon. 1996. Rapid diagnosis of catheter-related sepsis using the acridine orange leukocyte cytospin test and an endoluminal brush. *JPEN J. Parenter. Enteral Nutr.* 20:215-218.
325. von Baum, H., P. Philippi, and H. K. Geiss. 1998. Acridine-orange leucocyte cytospin (AOLC) test as an in-situ method for the diagnosis of central venous catheter (CVC)-related sepsis in adult risk patients. *Zentralbl. Bakteriologie*. 287:117-123.
326. Kite, P., B. M. Dobbins, M. H. Wilcox, and M. J. McMahon. 1999. Rapid diagnosis of central-venous-catheter-related bloodstream infection without catheter removal. *Lancet*. 354:1504-1507.
327. Bong, J. J., P. Kite, B. J. Ammori, M. H. Wilcox, and M. J. McMahon. 2003. The use of a rapid in situ test in the detection of central venous catheter-related bloodstream infection: a prospective study. *JPEN J. Parenter. Enteral Nutr.* 27:146-150.
328. Capdevila, J. A., A. M. Planes, M. Palomar, I. Gasser, B. Almirante, A. Pahissa, E. Crespo, and J. M. Martínez-Vázquez. 1992. Value of differential quantitative blood cultures in the diagnosis of catheter-related sepsis. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 11:403-407.
329. Douard, M. C., G. Arlet, P. Longuet, C. Troje, M. Rouveau, D. Ponscarne, and B. Eurin. 1999. Diagnosis of venous access port-related infections. *Clin. Infect. Dis.* 29:1197-1202.
330. Dorn, G. L., G. A. Land, and G. E. Wilson. 1979. Improved blood culture technique based on centrifugation: clinical evaluation. *J. Clin. Microbiol.* 9:391-396.
331. Chatzinikolaou, I., H. Hanna, R. Hachem, B. Alakech, J. Tarrand, and I. Raad. 2004. Differential quantitative blood cultures for the diagnosis of catheter-related bloodstream infections associated with short- and long-term catheters: a prospective study. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 50:167-172.
332. Douard, M. C., E. Clementi, G. Arlet, O. Marie, L. Jacob, B. Schremmer, M. Rouveau, M. T. Garrouste, and B. Eurin. 1994. Negative catheter-tip culture and diagnosis of catheter-related bacteremia. *Nutrition*. 10:397-404.

BIBLIOGRAFÍA

333. Flynn, P. M., J. L. Shenep, and F. F. Barrett. 1988. Differential quantitation with a commercial blood culture tube for diagnosis of catheter-related infection. *J. Clin. Microbiol.* 26:1045-1046.
334. Raucher, H. S., A. C. Hyatt, A. Barzilai, M. B. Harris, M. A. Weiner, N. S. LeLeiko, and D. S. Hodes. 1984. Quantitative blood cultures in the evaluation of septicemia in children with Broviac catheters. *J. Pediatr.* 104:29-33.
335. Blot, F., E. Schmidt, G. Nitenberg, C. Tancrede, B. Leclercq, A. Laplanche, and A. Andreumont. 1998. Earlier positivity of central-venous- versus peripheral-blood cultures is highly predictive of catheter-related sepsis. *J. Clin. Microbiol.* 36:105-109.
336. Raad, I., H. A. Hanna, B. Alakech, I. Chatzinikolaou, M. M. Johnson, and J. Tarrand. 2004. Differential time to positivity: a useful method for diagnosing catheter-related bloodstream infections. *Ann. Intern. Med.* 140:18-25.
337. Rijnders, B. J. A., C. Verwaest, W. E. Peetermans, A. Wilmer, S. Vandecasteele, J. Van Eldere, and E. Van Wijngaerden. 2001. Difference in time to positivity of hub-blood versus nonhub-blood cultures is not useful for the diagnosis of catheter-related bloodstream infection in critically ill patients. *Crit. Care Med.* 29:1399.
338. Gaur, A. H., P. M. Flynn, M. A. Giannini, J. L. Shenep, and R. T. Hayden. 2003. Difference in Time to Detection: A Simple Method to Differentiate Catheter-Related from Non—Catheter-Related Bloodstream Infection in Immunocompromised Pediatric Patients. *Clinical Infectious Diseases.* 37:469.
339. Seifert, H., O. Cornely, K. Seggewiss, M. Decker, D. Stefanik, H. Wisplinghoff, and G. Fatkenheuer. 2003. Bloodstream infection in neutropenic cancer patients related to short-term nontunnelled catheters determined by quantitative blood cultures, differential time to positivity, and molecular epidemiological typing with pulsed-field gel electrophoresis. *J. Clin. Microbiol.* 41:118.
340. Malgrange, V. B., M. C. Escande, and S. Theobald. 2001. Validity of earlier positivity of central venous blood cultures in comparison with peripheral blood cultures for diagnosing catheter-related bacteremia in cancer patients. *J. Clin. Microbiol.* 39:274.
341. Rogers, M., and B. Oppenheim. 1998. The use of continuous monitoring blood culture systems in the diagnosis of catheter related sepsis. *J. Clin. Pathol.* 51:635-637.
342. Markus, S., and S. Buday. 1989. Culturing indwelling central venous catheters in situ. *Infect Surg.* 8:157-162.
343. Bouza, E., A. Burillo, and P. Munoz. 2002. Catheter-related infections: diagnosis and intravascular treatment. *Clinical Microbiology and Infection.* 8:265-274.

BIBLIOGRAFÍA

344. Vanholder, R., B. Canaud, R. Fluck, M. Jadoul, L. Labriola, A. Marti-Monros, J. Tordoir, and W. Van Biesen. 2010. Diagnosis, prevention and treatment of haemodialysis catheter-related bloodstream infections (CRBSI): a position statement of European Renal Best Practice (ERBP). *NDT Plus*. 3:234-246.
345. Guías de Acceso Vascular en Hemodiálisis. 2004. Sociedad Española de Nefrología. .
346. Vijayvargiya, R., and J. H. Veis. 1996. Antibiotic-resistant endocarditis in a hemodialysis patient. *Journal of the American Society of Nephrology*. 7:536.
347. Center for Disease Control and Prevention NNIS System. 2001. Nacional nosocomial infections surveillance (NNIS) system report, data summary from January 1992-June 2001 issued August 2001. *Am J Infect Control*. 28:404-421.
348. Garrett, D. O., E. Jochimsen, K. Murfitt, B. Hill, S. McAllister, P. Nelson, R. V. Spera, R. K. Sall, F. C. Tenover, J. Johnston, B. Zimmer, and W. R. Jarvis. 1999. The emergence of decreased susceptibility to vancomycin in *Staphylococcus epidermidis*. *Infect. Control Hosp. Epidemiol*. 20:167-170.
349. Sieradzki, K., R. B. Roberts, S. W. Haber, and A. Tomasz. 1999. The development of vancomycin resistance in a patient with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *N. Engl. J. Med*. 340:517-523.
350. Laboratory Detection of Coagulase-negative *Staphylococcus* species with decreased susceptibility to the glycopeptides Vancomycin and Teicoplanin, CDC. 1999. CDC, Department of Health and human Services, U.S.A.
351. Tenover, F. C., M. V. Lancaster, B. C. Hill, C. D. Steward, S. A. Stocker, G. A. Hancock, O'Hara C.M., S. K. McAllister, N. C. Clark, and K. Hiramatsu. 1998. Characterization of staphylococci with reduced susceptibilities to vancomycin and other glycopeptides. *J. Clin. Microbiol*. 36:1020-1027.
352. Capdevila, J., J. Gavalda, J. Fortea, P. Lopez, M. Martin, X. Gomis, and A. Pahissa. 2001. Lack of antimicrobial activity of sodium heparin for treating experimental catheter-related infection due to *Staphylococcus aureus* using the antibiotic-lock technique. *Clinical Microbiology and Infection*. 7:206-212.
353. Capdevila, J., A. Segarra, A. Planes, M. Ramirez-Arellano, A. Pahissa, L. Piera, and J. Martinez-Vazquez. 1993. Successful treatment of haemodialysis catheter-related sepsis without catheter removal. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 8:231-234.

BIBLIOGRAFÍA

354. Del Pozo, J. L., M. Alonso, A. Serrera, S. Hernaez, A. Aguinaga, and J. Leiva. 2009. Effectiveness of the antibiotic lock therapy for the treatment of port-related enterococci, Gram-negative, or Gram-positive bacilli bloodstream infections. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 63:208-212.
355. Benoit, J. L., G. Carandang, M. Sitrin, and P. M. Arnow. 1995. Intraluminal antibiotic treatment of central venous catheter infections in patients receiving parenteral nutrition at home. *Clinical Infectious Diseases.* 21:1286.
356. Del Pozo, J., R. Rodil, A. Aguinaga, J. Yuste, C. Bustos, A. Montero, G. Espinosa, and N. García-Fernández. 2012. Daptomycin lock therapy for grampositive long-term catheter-related bloodstream infections. *Int. J. Clin. Pract.* 66:305-308.
357. Bailey, E., N. Berry, and J. Cheesbrough. 2002. Antimicrobial lock therapy for catheter-related bacteraemia among patients on maintenance haemodialysis. *J. Antimicrob. Chemother.* 50:615-617.
358. Fortun, J., F. Grill, P. Martin-Davila, J. Blázquez, M. Tato, J. Sanchez-Corral, L. García-San Miguel, and S. Moreno. 2006. Treatment of long-term intravascular catheter-related bacteraemia with antibiotic-lock therapy. *J. Antimicrob. Chemother.* 58:816-821.
359. Buchman, A. L., A. Moukarzel, B. Goodson, F. Herzog, P. Pollack, L. Reyen, M. Alvarez, M. E. Ament, and J. Gornbein. 1994. Catheter-related infections associated with home parenteral nutrition and predictive factors for the need for catheter removal in their treatment. *J. Parenter. Enteral Nutr.* 18:297-302.
360. Moss, A., C. Vasilakis, J. Holley, C. Foulks, K. Pillai, and D. McDowell. 1990. Use of a silicone dual-lumen catheter with a Dacron cuff as a long-term vascular access for hemodialysis patients. *American Journal of Kidney Diseases: The Official Journal of the National Kidney Foundation.* 16:211.
361. Lund, G. B., S. O. Trerotola, P. F. Scheel Jr, S. J. Savader, S. E. Mitchell, A. C. Venbrux, and F. A. Osterman Jr. 1996. Outcome of tunneled hemodialysis catheters placed by radiologists. *Radiology.* 198:467-472.
362. Vardhan, A., J. Davies, I. Daryanani, A. Crowe, and P. McClelland. 2002. Treatment of haemodialysis catheter-related infections. *Nephrology Dialysis Transplantation.* 17:1149-1150.
363. Boorgu, R., A. Dubrow, N. Levin, B. Canaud, J. Lentino, D. Wentworth, D. Hatch, J. Megerman, F. Prosl, and V. Gandhi. 2000. Adjunctive antibiotic/anticoagulant lock therapy in the treatment of bacteremia associated with the use of a subcutaneously implanted hemodialysis access device. *ASAIO Journal.* 46:767.

BIBLIOGRAFÍA

364. Peterson, W. J., I. D. Maya, D. Carlton, E. Estrada, and M. Allon. 2009. Treatment of Dialysis Catheter–Related Enterococcus Bacteremia With an Antibiotic Lock: A Quality Improvement Report. *American Journal of Kidney Diseases*. 53:107-111.
365. Raad, I., S. Davis, A. Khan, J. Tarrand, L. Elting, and G. P. Bodey. 1992. Impact of central venous catheter removal on the recurrence of catheter-related coagulase-negative staphylococcal bacteremia. *Infection Control and Hospital Epidemiology*. 215-221.
366. Clinical Practice Guidelines for Vascular Access. 2000. THE NATIONAL KIDNEY Foundation's Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (K/DOQI).
367. Mokrzycki, M. H., and A. Singhal. 2002. Cost-effectiveness of three strategies of managing tunnelled, cuffed haemodialysis catheters in clinically mild or asymptomatic bacteraemias. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 17:2196-2203.
368. Humar, A., A. Ostromecki, J. Drenfeld, J. C. Marshall, N. Lazar, P. C. Houston, P. Boiteau, and J. M. Conly. 2000. Prospective Randomized Trial of 10% Povidone-Iodine versus 0.5% Tincture of Chlorhexidine as Cutaneous Antisepsis for Prevention of Central Venous Catheter Infection. *Clinical Infectious Diseases*. 31:1001-1001.
369. Kessler, M. 2002. expert group on haemodialysis. European Best Practice Guidelines on Haemodialysis. *Nephrol. Dial. Transplant*. 17:1-111.
370. Tordoir, J., B. Canaud, P. Haage, K. Konner, A. Basci, D. Fouque, J. Kooman, A. Martin-Malo, L. Pedrini, and F. Pizzarelli. 2007. EBPG on vascular access. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 22:88-117.
371. Rabindranath, K. S., T. Bansal, J. Adams, R. Das, R. Shail, A. M. MacLeod, C. Moore, and A. Besarab. 2009. Systematic review of antimicrobials for the prevention of haemodialysis catheter-related infections. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 24:3763-3774.
372. James, M. T., J. Conley, M. Tonelli, B. J. Manns, J. MacRae, and B. R. Hemmelgarn. 2008. Meta-analysis: Antibiotics for Prophylaxis against Hemodialysis Catheter–Related Infections. *Ann. Intern. Med*. 148:596-605.
373. Tacconelli, E., Y. Carmeli, A. Aizer, G. Ferreira, M. G. Foreman, and E. D'Agata. 2003. Mupirocin prophylaxis to prevent Staphylococcus aureus infection in patients undergoing dialysis: a meta-analysis. *Clinical Infectious Diseases*. 37:1629.

BIBLIOGRAFÍA

374. Beathard, G. A., and A. Urbanes. 2008. Infection Associated with Tunneled Hemodialysis Catheters. *Semin. Dial.* 21:528-538.
375. Zakrzewska-Bode, A., H. Muytjens, K. Liem, and J. Hoogkamp-Korstanje. 1995. Mupirocin resistance in coagulase-negative staphylococci, after topical prophylaxis for the reduction of colonization of central venous catheters. *J. Hosp. Infect.* 31:189-193.
376. Pérez-Fontán, M., M. Rosales, A. Rodríguez-Carmona, T. G. Falcón, and F. Valdés. 2002. Mupirocin resistance after long-term use for *Staphylococcus aureus* colonization in patients undergoing chronic peritoneal dialysis. *American Journal of Kidney Diseases.* 39:337-341.
377. Miller, M. A., A. Dascal, J. Portnoy, and J. Mendelson. 1996. Development of mupirocin resistance among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* after widespread use of nasal mupirocin ointment. *Infection Control and Hospital Epidemiology.* 811-813.
378. Jaffer, Y., N. M. Selby, M. W. Taal, R. J. Fluck, and C. W. McIntyre. 2008. A meta-analysis of hemodialysis catheter locking solutions in the prevention of catheter-related infection. *Am. J. Kidney Dis.* 51:233-241.
379. Tokars, J. I., M. J. Arduino, and M. J. Alter. 2001. Infection control in hemodialysis units. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 15:797.
380. Yahav, D., B. Rozen-Zvi, A. Gafter-Gvili, L. Leibovici, U. Gafter, and M. Paul. 2008. Antimicrobial lock solutions for the prevention of infections associated with intravascular catheters in patients undergoing hemodialysis: systematic review and meta-analysis of randomized, controlled trials. *Clinical Infectious Diseases.* 47:83.
381. O'Grady, N. P., M. Alexander, E. P. Dellinger, J. L. Gerberding, S. O. Heard, D. G. Maki, H. Masur, R. D. McCormick, L. A. Mermel, and M. L. Pearson. 2002. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. *Pediatrics.* 110:e51.
382. Pronovost, P., D. Needham, S. Berenholtz, D. Sinopoli, H. Chu, S. Cosgrove, B. Sexton, R. Hyzy, R. Welsh, and G. Roth. 2006. An intervention to decrease catheter-related bloodstream infections in the ICU. *N. Engl. J. Med.* 355:2725-2732.
383. Elliott, T., and S. Tebbs. 1998. Prevention of central venous catheter-related infection. *J. Hosp. Infect.* 40:193-201.
384. Maki, D. G., S. M. Stolz, S. Wheeler, and L. A. Mermel. 1997. Prevention of central venous catheter-related bloodstream infection by use of an antiseptic-impregnated catheter. *Ann. Intern. Med.* 127:257-266.

BIBLIOGRAFÍA

385. Pemberton, L. B., V. Ross, P. Cuddy, H. Kremer, T. Fessler, and E. McGurk. 1996. No difference in catheter sepsis between standard and antiseptic central venous catheters: a prospective randomized trial. *Archives of Surgery*. 131:986.
386. Ciresi, D. L., R. M. Albrecht, P. A. Volkers, and D. J. Scholten. 1996. Failure of antiseptic bonding to prevent central venous catheter-related infection and sepsis. *Am. Surg.* 62:641.
387. Saxena, A. K., and B. R. Panhotra. 2005. Prevention of catheter-related bloodstream infections: An appraisal of developments in designing an infection-resistant 'dream dialysis-catheter'(Review Article). *Nephrology*. 10:240-248.
388. Heard, S. O., M. Wagle, E. Vijayakumar, S. McLean, A. Brueggemann, L. M. Napolitano, L. P. Edwards, F. M. O'Connell, J. C. Puyana, and G. V. Doern. 2001. Influence of triple-lumen central venous catheters coated with chlorhexidine and silver sulfadiazine on the incidence of catheter-related bacteremia. *Arch. Intern. Med.* 158:81.
389. Oda, T., J. Hamasaki, N. Kanda, and K. Mikami. 1997. Anaphylactic Shock Induced by an Antiseptic-coated Central Nervous Catheter. *Anesthesiology*. 87:1242.
390. World Health Organization. 1997. Central venous catheters (Arrowguard®) recalled: anaphylactic shock. Information Exchange System, Alert. .
391. Veenstra, D. L., S. Saint, S. Saha, T. Lumley, and S. D. Sullivan. 1999. Efficacy of antiseptic-impregnated central venous catheters in preventing catheter-related bloodstream infection. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*. 281:261-267.
392. Otto, M., R. Süßmuth, C. Vuong, G. Jung, and F. Götz. 1999. Inhibition of virulence factor expression in *Staphylococcus aureus* by the *Staphylococcus epidermidis* agr pheromone and derivatives. *FEBS Lett.* 450:257-262.
393. Sun, Q., G. M. Smith, C. Zahradka, and M. J. McGavin. 1997. Identification of D motif epitopes in *Staphylococcus aureus* fibronectin-binding protein for the production of antibody inhibitors of fibronectin binding. *Infect. Immun.* 65:537-543.
394. Parsek, M. R., D. L. Val, B. L. Hanzelka, J. E. Cronan, and E. Greenberg. 1999. Acyl homoserine-lactone quorum-sensing signal generation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 96:4360.
395. Kiran, M., A. Giacometti, O. Cirioni, and N. Balaban. 2008. Suppression of biofilm related, device-associated infections by staphylococcal quorum sensing inhibitors. *Int. J. Artif. Organs*. 31:761.

BIBLIOGRAFÍA

396. Heilmann, C., and F. Götz. 2010. Cell–Cell Communication and Biofilm Formation in Gram-Positive Bacteria. *Bacterial Signaling*. 7-22.
397. Levy, J., J. Morgan, and E. Brown. 2004. *Oxford handbook of dialysis*. Oxford University Press.
398. Piketty, C., A. B. Hoï, J. Gilquin, A. Casetta, P. Castiel, S. Vaupre, L. Gutmann, and M. D. Kazatchkine. 1999. Failure of antibiotic therapy in *Staphylococcus epidermidis* infection of implantable venous access devices in patients with AIDS, as documented by molecular typing. *Clinical Microbiology and Infection*. 5:190-194.
399. Sherertz, R. J., M. S. Boger, C. A. Collins, L. Mason, and I. I. Raad. 2006. Comparative in vitro efficacies of various catheter lock solutions. *Antimicrob. Agents Chemother.* 50:1865.
400. Raad, I., H. Hanna, T. Dvorak, G. Chaiban, and R. Hachem. 2007. Optimal antimicrobial catheter lock solution, using different combinations of minocycline, EDTA, and 25-percent ethanol, rapidly eradicates organisms embedded in biofilm. *Antimicrob. Agents Chemother.* 51:78.
401. Raad, I. I., X. Fang, X. M. Keutgen, Y. Jiang, R. Sherertz, and R. Hachem. 2008. The role of chelators in preventing biofilm formation and catheter-related bloodstream infections. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 21:385.
402. Feely, T., A. Copley, and A. J. Bleyer. 2007. Catheter lock solutions to prevent bloodstream infections in high-risk hemodialysis patients. *Am. J. Nephrol.* 27:24-29.
403. Abbas, S. A., I. A. Haloob, S. L. Taylor, E. M. Curry, B. B. King, W. M. Van der Merwe, and M. R. Marshall. 2009. Effect of antimicrobial locks for tunneled hemodialysis catheters on bloodstream infection and bacterial resistance: a quality improvement report. *American Journal of Kidney Diseases*. 53:492-502.
404. Pervez, A., M. Ahmed, S. Ram, C. Torres, J. Work, F. Zaman, and K. Abreo. 2002. Antibiotic lock technique for prevention of cuffed tunnel catheter associated bacteremia. *J. Vasc. Access.* 3:108-113.
405. Carratala, J., J. Niubo, A. Fernandez-Sevilla, E. Juve, X. Castellsague, J. Berlanga, J. Linares, and F. Gudiol. 1999. Randomized, double-blind trial of an antibiotic-lock technique for prevention of gram-positive central venous catheter-related infection in neutropenic patients with cancer. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43:2200.
406. Kim, S., K. Song, J. Chang, S. Kim, S. Sung, S. Jo, W. Cho, and H. Kim. 2006. Prevention of uncuffed hemodialysis catheter-related bacteremia using an antibiotic lock technique: a prospective, randomized clinical trial. *Kidney Int.* 69:161-164.

BIBLIOGRAFÍA

407. Bleyer, A. J., L. Mason, G. Russell, I. I. Raad, and R. J. Sherertz. 2005. A randomized, controlled trial of a new vascular catheter flush solution (minocycline-EDTA) in temporary hemodialysis access. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 26:520-524.
408. Nori, U. S., A. Manoharan, J. Yee, and A. Besarab. 2006. Comparison of low-dose gentamicin with minocycline as catheter lock solutions in the prevention of catheter-related bacteremia. *American Journal of Kidney Diseases.* 48:596-605.
409. Saxena, A. K., B. R. Panhotra, D. S. Sundaram, M. N. F. Morsy, and A. L. I. M. A. L. A. AL-GHAMDI. 2006. Enhancing the survival of tunneled haemodialysis catheters using an antibiotic lock in the elderly: A randomised, double-blind clinical trial. *Nephrology.* 11:299-305.
410. Saxena, A., B. Panhotra, D. Sundaram, A. Al-Hafiz, M. Naguib, C. Venkateshappa, B. Abu-Oun, S. Hussain, and A. M. A. A. Al Ghamdi. 2006. Tunneled catheters' outcome optimization among diabetics on dialysis through antibiotic-lock placement. *Kidney Int.* 70:1629-1635.
411. Zhang, P., W. Zhang, Q. He, J. Yuan, W. Xie, W. Jiang, H. Jiang, and J. Chen. 2006. A randomized controlled study on prevention of cuff-tunneled catheter related bacteremia with gentamicinheparin lock solution: The metaphase result. *J. Am. Soc. Nephrol.* 17:592A.
412. Snarterse, M., W. Rüger, W. J. M. S. Reimer, and C. Lucas. 2010. Antibiotic-based catheter lock solutions for prevention of catheter-related bloodstream infection: a systematic review of randomised controlled trials. *J. Hosp. Infect.* 75:1-11.
413. Mortazavi, M., S. Alsaiedi, R. Sobhani, F. Salimi, A. Atapour, N. Sharif, M. Akbari, B. Pakzad, and A. H. D. Jazi. 2011. Successful prevention of tunneled, central catheter infection by antibiotic lock therapy using cefotaxime. *JRMS.* 16:303-309.
414. Weijmer, M. C., M. A. Van Den Dorpel, P. J. G. Van de Ven, P. M. Ter Wee, J. A. C. A. Van Geelen, J. O. Groeneveld, B. C. Van Jaarsveld, M. G. Koopmans, C. Y. Le Poole, and A. M. Schrande-Van der Meer. 2005. Randomized, clinical trial comparison of trisodium citrate 30% and heparin as catheter-locking solution in hemodialysis patients. *Journal of the American Society of Nephrology.* 16:2769-2777.
415. Dogra, G. K., H. Herson, B. Hutchison, A. B. Irish, C. H. Heath, C. Golledge, G. Luxton, and H. Moody. 2002. Prevention of tunneled hemodialysis catheter-related infections using catheter-restricted filling with gentamicin and citrate: a randomized controlled study. *Journal of the American Society of Nephrology.* 13:2133.

BIBLIOGRAFÍA

416. Hendrickx, L., D. Kuypers, P. Evenepoel, B. Maes, T. Messiaen, and Y. Vanrenterghem. 2001. A comparative prospective study on the use of low concentrate citrate lock versus heparin lock in permanent dialysis catheters. *Int. J. Artif. Organs*. 24:208-211.
417. MacRae, J. M., I. Dojcinovic, O. Djurdjev, B. Jung, S. Shalansky, A. Levin, and M. Kiaii. 2008. Citrate 4% versus heparin and the reduction of thrombosis study (CHARTS). *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. 3:369-374.
418. McIntyre, C. W., L. J. Hulme, M. Taal, and R. J. Fluck. 2004. Locking of tunneled hemodialysis catheters with gentamicin and heparin. *Kidney Int*. 66:801-805.
419. Cooper, R., and T. Saad. 1999. Prevention of bacteremia in patients with tunneled cuffed 'permanent' hemodialysis catheters using gentamicin catheter packing. *J. Am. Soc. Nephrol*. 10:203A.
420. Al-Hwiesh, A., and I. Abdul-Rahman. 2007. Successful prevention of tunneled, central catheter infection by antibiotic lock therapy using vancomycin and gentamycin. *Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation*. 18:239.
421. Al-Hwiesh, A. 2008. Tunneled catheter-antibiotic lock therapy for prevention of dialysis catheter-related infections: a single center experience. *Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation*. 19:593.
422. Power, A., N. Duncan, S. K. Singh, W. Brown, E. Dalby, C. Edwards, K. Lynch, V. Prout, T. Cairns, and M. Griffith. 2009. Sodium citrate versus heparin catheter locks for cuffed central venous catheters: a single-center randomized controlled trial. *American Journal of Kidney Diseases*. 53:1034-1041.
423. Zhang, P., J. Yuan, H. Tan, R. Lv, and J. Chen. 2009. Successful Prevention of Cuffed Hemodialysis Catheter-Related Infection Using an Antibiotic Lock Technique by Strictly Catheter-Restricted Antibiotic Lock Solution Method. *Blood Purif*. 27:206-211.
424. Meeus, G., D. R. J. Kuypers, K. Claes, P. Evenepoel, B. Maes, and Y. Vanrenterghem. 2005. A prospective, randomized, double-blind crossover study on the use of 5% citrate lock versus 10% citrate lock in permanent hemodialysis catheters. *Blood Purif*. 23:101-105.
425. Labriola, L., R. Crott, and M. Jadoul. 2008. Preventing haemodialysis catheter-related bacteraemia with an antimicrobial lock solution: a meta-analysis of prospective randomized trials. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 23:1666.

BIBLIOGRAFÍA

426. Barriga, F. J., M. Varas, M. Potin, F. Sapunar, H. Rojo, A. Martinez, V. Capdeville, A. Becker, and P. A. Vial. 1997. Efficacy of a vancomycin solution to prevent bacteremia associated with an indwelling central venous catheter in neutropenic and non-neutropenic cancer patients. *Med. Pediatr. Oncol.* 28:196-200.
427. Berns, J. S., and J. Tokars. 2002. Preventing bacterial infections and antimicrobial resistance in dialysis patients. *American Journal of Kidney Diseases.* 40:886-898.
428. Allon, M. 2004. Dialysis catheter-related bacteremia: treatment and prophylaxis. *American Journal of Kidney Diseases.* 44:779-791.
429. Saxena, A. K., B. Panhotra, and M. Naguib. 2002. Sudden Irreversible Sensory-Neural Hearing Loss in a Patient with Diabetes Receiving Amikacin as an Antibiotic-Heparin Lock. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy.* 22:105-108.
430. Saxena, A. 2003. Ototoxicity from the aminoglycoside-heparin/citrate locks applied for the prevention of hemodialysis catheter-related infections. *Journal of Vascular Access.* 4:35-36.
431. Eliopoulos, G., and E. D'Agata. 2002. Antimicrobial-resistant, Gram-positive bacteria among patients undergoing chronic hemodialysis. *Clinical Infectious Diseases.* 35:1212.
432. Tuazon, C., and H. Miller. 1983. Clinical and microbiologic aspects of serious infections caused by *Staphylococcus epidermidis*. *Scand. J. Infect. Dis.* 15:347.
433. Uttley, A., R. George, J. Naidoo, N. Woodford, A. Johnson, C. Collins, D. Morrison, A. Gilfillan, L. Fitch, and J. Heptonstall. 1989. High-level vancomycin-resistant enterococci causing hospital infections. *Epidemiol. Infect.* 103:173-181.
434. Tsiodras, S., H. S. Gold, G. Sakoulas, G. M. Eliopoulos, C. Wennersten, L. Venkataraman, R. C. Moellering, and M. J. Ferraro. 2001. Linezolid resistance in a clinical isolate of *Staphylococcus aureus*. *The Lancet.* 358:207-208.
435. Fridkin, S. K., S. M. Pear, T. H. Williamson, J. N. Galgiani, and W. R. Jarvis. 1996. The role of understaffing in central venous catheter-associated bloodstream infections. *Infection Control and Hospital Epidemiology.* 150-158.
436. Centers for DiseaseControl and Prevention. *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin: United States. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2002;51:565-7. .

BIBLIOGRAFÍA

437. Trerotola, S. O., M. S. Johnson, V. J. Harris, H. Shah, W. T. Ambrosius, M. A. McKusky, and M. A. Kraus. 1997. Outcome of tunneled hemodialysis catheters placed via the right internal jugular vein by interventional radiologists. *Radiology*. 203:489.
438. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2002b. Guide -lines for the prevention of intravascular catheter-related infections. *MMWR*, 51 (RR-10), 1-36. Retrieved
439. Guía de Prevención de Infecciones Relacionadas con Catéteres Intravasculares. Versión española adaptada 2003, de Guidelines for the prevention of Intravascular Catheter-Related Infections 2002. CDC. USA. .
440. NKF-KDOQI. 2006. Clinical practice guidelines for vascular access. Vascular Access Work Group. *Am J Kidney Dis*. 48:S48-272.-247.
441. Jindal, K., C. T. Chan, C. Deziel, D. Hirsch, S. D. Soroka, M. Tonelli, and B. F. Culleton. 2006. Canadian Society of Nephrology Committee for Clinical Practice Guidelines. Hemodialysis clinical practice guidelines for the Canadian Society of Nephrology. *J Am Soc Nephrol. Journal of the American Society of Nephrology*. 17:S1-27.:S23.
442. Collignon, P. J. 1994. Intravascular catheter associated sepsis: a common problem. The Australian Study on Intravascular Catheter Associated Sepsis. *Med. J. Aust*. 161:374.
443. Maslow, J. N., M. E. Mulligan, and R. D. Arbeit. 1993. Molecular epidemiology: application of contemporary techniques to the typing of microorganisms. *Clin. Infect. Dis*. 17:153-162.
444. Maslow, J., and M. E. Mulligan. 1996. Epidemiologic Typing Systems. *Infection Control and Hospital Epidemiology*. 17:595-604.
445. Soll DR, Lochart SR, Pujol C. 2003. Manual of clinical microbiology. Laboratory procedures for the epidemiological analysis of microorganisms., p. 139-161. In Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (ed.), (8^aed). Washington, DC. American Society for Microbiology ed., .
446. Coll P., P. G. 2006. Epidemiología molecular de las enfermedades infecciosas. Tratado SEIMC de enfermedades infecciosas y microbiología clínica. págs. 71-83. , Madrid.
447. Birren B, Lai E, editores. 1993. Pulsed-field gel electrophoresis. A practical guide. San Diego, CA, EEUU: Academic Press Inc.

BIBLIOGRAFÍA

448. Goering, R. V. 1993. Molecular Epidemiology of Nosocomial Infection: Analysis of Chromosomal Restriction Fragment Patterns by Pulsed-Field Gel Electrophoresis. *Infection Control and Hospital Epidemiology*. 14:595-600.
449. Schwartz, D. C., and C. R. Cantor. 1984. Separation of yeast chromosome-sized DNAs by pulsed field gradient gel electrophoresis. *Cell*. 37:67-75.
450. Chaves, F., J. Garcia-Martinez, S. de Miguel, F. Sanz, and J. R. Otero. 2005. Epidemiology and clonality of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* causing bacteremia in a tertiary-care hospital in Spain. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 26:150-156.
451. Smith, C. L., and C. R. Cantor. 1987. [28] Purification, specific fragmentation, and separation of large DNA molecules. *Meth. Enzymol.* 155:449-467.
452. Tenover, F. C., R. D. Arbeit, R. V. Goering, P. A. Mickelsen, B. E. Murray, D. H. Persing, and B. Swaminathan. 1995. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J. Clin. Microbiol.* 33:2233-2239.
453. Gautam, R. K. 1997. Rapid pulsed-field gel electrophoresis protocol for typing of *Escherichia coli* O157:H7 and other gram-negative organisms in 1 day. *J. Clin. Microbiol.* 35:2977-80..
454. Freeman, D., F. Falkiner, and C. Keane. 1989. New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *J. Clin. Pathol.* 42:872.
455. Bone, R. C., R. A. Balk, F. B. Cerra, R. P. Dellinger, A. M. Fein, W. A. Knaus, R. Schein, and W. J. Sibbald. 1992. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest*. 101:1644-1655.
456. Jones, C. A., A. S. Krolewski, J. Rogus, J. L. Xue, A. Collins, and J. H. Warram. 2005. Epidemic of end-stage renal disease in people with diabetes in the United States population: Do we know the cause&quest. *Kidney Int.* 67:1684-1691.
457. Miles, A., and E. A. Friedman. 1993. Dialytic therapy for diabetic patients with terminal renal failure. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2:868.
458. Little, M. A., A. O'Riordan, B. Lucey, M. Farrell, M. Lee, P. J. Conlon, and J. J. Walshe. 2001. A prospective study of complications associated with cuffed, tunnelled haemodialysis catheters. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 16:2194-2200.

BIBLIOGRAFÍA

459. Catton, J. A., B. M. Dobbins, J. M. Wood, P. Kite, D. Burke, and M. J. McMahon. 2004. The routine microbiological screening of central venous catheters in home parenteral nutrition patients. *Clinical Nutrition*. 23:171-175.
460. Fux, C. A., D. Uehlinger, T. Bodmer, S. Droz, C. Zellweger, and K. Muhlemann. 2005. Dynamics of hemodialysis catheter colonization by coagulase-negative staphylococci. *Infect. Control Hosp. Epidemiol*. 26:567-574.
461. Guiot, H., A. Helmig-Schurter, and J. Van't Noordende. 1992. The relevance of cultures of catheter-drawn blood and heparin-lock fluid to diagnose infection in hematologic patients. *Ann. Hematol*. 64:28-34.
462. Koch, M., and D. Coyne. 2002. Bacterial colonization of chronic hemodialysis catheters: Evaluation with endoluminal brushes and heparin aspirate. 3:38-42.
463. Bouza, E., P. Muñoz, A. Burillo, J. López-Rodríguez, C. Fernández-Pérez, M. J. Pérez, and C. Rincón. 2005. The challenge of anticipating catheter tip colonization in major heart surgery patients in the intensive care unit: Are surface cultures useful? *Crit. Care Med*. 33:1953-1960.
464. Aguinaga, A., and J. L. Del Pozo. 2011. Infección asociada a catéter en hemodiálisis: diagnóstico, tratamiento y prevención. *Nefrología*. 2011; 4(2):1-10.
465. Robinson, D., P. Suhocki, and S. J. Schwab. 1998. Treatment of infected tunneled venous access hemodialysis catheters with guidewire exchange. *Kidney Int*. 53:1792-1794.
466. Lok, C. E., K. E. Stanley, J. E. Hux, R. Richardson, S. W. Tobe, and J. Conly. 2003. Hemodialysis infection prevention with polysporin ointment. *Journal of the American Society of Nephrology*. 14:169-179.
467. Grudzinski, L., P. Quinan, S. Kwok, and A. Pierratos. 2007. Sodium citrate 4% locking solution for central venous dialysis catheters—an effective, more cost-efficient alternative to heparin. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 22:471-476.
468. Finelli, A., L. L. Burrows, F. A. DiCosmo, V. DiTizio, S. Sinnadurai, D. G. Oreopoulos, and A. E. Khoury. 2002. Colonization-resistant antimicrobial-coated peritoneal dialysis catheters: evaluation in a newly developed rat model of persistent *Pseudomonas aeruginosa* peritonitis. *Peritoneal Dialysis International*. 22:27.
469. Marrie, T. J., and J. Costerton. 1984. Scanning and transmission electron microscopy of in situ bacterial colonization of intravenous and intraarterial catheters. *J. Clin. Microbiol*. 19:687-693.

BIBLIOGRAFÍA

470. Salzman, M. B., H. D. Isenberg, J. F. Shapiro, P. J. Lipsitz, and L. G. Rubin. 1993. A prospective study of the catheter hub as the portal of entry for microorganisms causing catheter-related sepsis in neonates. *J. Infect. Dis.* 167:487-490.
471. Shaffer, D. 1995. Catheter-related sepsis complicating long-term, tunnelled central venous dialysis catheters: management by guidewire exchange. *American Journal of Kidney Diseases.* 25:593-596.
472. Muder, R. R., A. P. Harris, S. Muller, M. Edmond, J. W. Chow, K. Papadakis, M. W. Wagener, G. P. Bodey, and J. M. Steckelberg. 1996. Bacteremia due to *Stenotrophomonas* (*Xanthomonas*) *maltophilia*: a prospective, multicenter study of 91 episodes. *Clinical Infectious Diseases.* 22:508.
473. Muder, R. R., V. L. Yu, J. S. Dummer, C. Vinson, and R. M. Lumish. 1987. Infections caused by *Pseudomonas maltophilia*: expanding clinical spectrum. *Arch. Intern. Med.* 147:1672.
474. Elting, L. S., and G. P. Bodey. 1990. Septicemia due to *Xanthomonas* species and non-aeruginosa *Pseudomonas* species: increasing incidence of catheter-related infections. *Medicine.* 69:296.
475. Hanna, H., C. Afif, B. Alakech, M. Boktour, J. Tarrand, R. Hachem, and I. Raad. 2004. Central venous catheter-related bacteremia due to gram-negative bacilli: significance of catheter removal in preventing relapse. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 25:646-649.
476. Rijnders, B. J., E. Van Wijngaerden, S. J. Vandecasteele, M. Stas, and W. E. Peetermans. 2005. Treatment of long-term intravascular catheter-related bacteraemia with antibiotic lock: randomized, placebo-controlled trial. *J. Antimicrob. Chemother.* 55:90-94.
477. Bestul, M. B., and H. L. VandenBussche. 2005. Antibiotic lock technique: review of the literature. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy.* 25:211-227.
478. Wang, E., C. Prober, L. Ford-Jones, and R. Gold. 1984. The management of central intravenous catheter infections. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 3:110.
479. Sadiq, H. F., S. Devaskar, W. J. Keenan, and T. R. Weber. 1987. Broviac catheterization in low birth weight infants: incidence and treatment of associated complications. *Crit. Care Med.* 15:47.
480. Hiemenz, J., J. Skelton, and P. A. Pizzo. 1986. Perspective on the management of catheter-related infections in cancer patients. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 5:6.

BIBLIOGRAFÍA

481. Benezra, D., T. E. Kiehn, J. W. M. Gold, A. E. Brown, A. D. M. Turnbull, and D. Armstrong. 1988. Prospective study of infections in indwelling central venous catheters using quantitative blood cultures*. *Am. J. Med.* 85:495-498.
482. Abrahm, J. L., and J. L. Mullen. 1982. A prospective study of prolonged central venous access in leukemia. *JAMA: The Journal of the American Medical Association.* 248:2868-2873.
483. Anthony, T. U., and L. G. Rubin. 1999. Stability of antibiotics used for antibiotic-lock treatment of infections of implantable venous devices (ports). *Antimicrob. Agents Chemother.* 43:2074-2076.
484. Gómez-García, A., C. Pérez-Giraldo, and A. Rodríguez-Benito. 1996. Antimicrobianos y adherencia de estafilococos coagulasa-negativos. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 14:261-266.
485. Henrickson, K. J., and W. M. Dunne. 1992. Modification of central venous catheter flush solution improves in vitro antimicrobial activity. *J. Infect. Dis.* 166:944-946.
486. Barg NL, Supena RB, Fekety R. 1986. Persistent staphylococcal bacteremia in an intravenous drug abuse series. *J. Ach.* 29: 209 – 11.:
487. Eliopoulos GM, M. R. 1991. Laboratory methods used to assess the activity of antimicrobial combinations. In: Lorian V. Ed. *Antibiotics in Laboratory Medicine.* Baltimore: Williams & Wilkins. 434 – 49.
488. Malcomson, C., S. Zilka, J. Saum, G. Moore, and T. Deeks. 1997. Investigations into the compatibility of teicoplanin with heparin. *Eur J Par Sci.* 2:51-55.
489. Kudsk, K. A., C. Powell, J. M. Mirtallo, P. J. Fabri, and R. L. Ruberg. 1985. Heparin does not reduce catheter sepsis during total parenteral nutrition. *J. Parenter. Enteral Nutr.* 9:348-349.
490. Ramírez de Arellano, E., A. Pascual, L. Martínez-Martínez, and E. Perea. 1995. Actividad de antimicrobianos en biocapas de *Staphylococcus epidermidis* sobre catéteres de cloruro de polivinilo. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 13:581-586.
491. López P, Capdevila JA, Gavalda J, Laguarda M, Borell N, Pahissa A. 1999. Valoración de la actividad antibacteriana de Vancomicina y Ciprofloxacino sobre biocapas de *S. aureus*. Program and Abstracts of the 8th Congreso Nacional De La SEIMC, Palma De Mallorca, Spain. Sociedad Española De Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, Palma De Mallorca. 162.

BIBLIOGRAFÍA

492. Raad, I., H. Hanna, Y. Jiang, T. Dvorak, R. Reitzel, G. Chaiban, R. Sherertz, and R. Hachem. 2007. Comparative activities of daptomycin, linezolid, and tigecycline against catheter-related methicillin-resistant *Staphylococcus* bacteremic isolates embedded in biofilm. *Antimicrob. Agents Chemother.* 51:1656-1660.
493. Gaillard, J. L., R. Merlino, N. Pajot, O. Goulet, J. L. Fauchere, C. Ricour, and M. Veron. 1990. Conventional and nonconventional modes of vancomycin administration to decontaminate the internal surface of catheters colonized with coagulase-negative staphylococci. *J. Parenter. Enteral Nutr.* 14:593-597.
494. Garland JS, Henrickson KJ, Maki DG. 2002;. A prospective randomized trial of vancomycin-heparin lock for prevention of catheter-related bloodstream infection in an NNICU. Annual Meeting of the Pediatric Academic Societies;. May 4–7:.
495. Daghistani, D., M. Horn, Z. Rodriguez, S. Schoenike, and S. Toledano. 1996. Prevention of indwelling central venous catheter sepsis. *Med. Pediatr. Oncol.* 26:405-408.
496. Rackoff, W. R., M. Weiman, D. Jakobowski, R. Hirschl, V. Stallings, J. Bilodeau, P. Danz, L. Bell, and B. Lange. 1995. A randomized, controlled trial of the efficacy of a heparin and vancomycin solution in preventing central venous catheter infections in children. *J. Pediatr.* 127:147-151.
497. Linuma, Y. 2007. [Infection control strategies for antimicrobial-resistance]. *Nihon Rinsho. Japanese Journal of Clinical Medicine.* 65:175.
498. Goldmann, D. A., and W. C. Huskins. 1997. Control of nosocomial antimicrobial-resistant bacteria: a strategic priority for hospitals worldwide. *Clinical Infectious Diseases.* 24:S139-S145.
499. Goldmann, D. A., R. A. Weinstein, R. P. Wenzel, O. C. Tablan, R. J. Duma, R. P. Gaynes, J. Schlosser, W. J. Martone, J. Acar, and J. Avorn. 1996. Strategies to Prevent and Control the Emergence and Spread of Antimicrobial-Resistant Microorganisms in HospitalsA Challenge to Hospital Leadership. *JAMA: The Journal of the American Medical Association.* 275:234-240.
500. Ekkelenkamp, M. B., T. van der Bruggen, D. A. M. C. van de Vijver, T. F. W. Wolfs, and M. J. M. Bonten. 2008. Bacteremic complications of intravascular catheters colonized with *Staphylococcus aureus*. *Clinical Infectious Diseases.* 46:114-118.
501. Dufort y Alvarez, G. 2009. Guía para el tratamiento del paciente con neutropenia febril. *Archivos De Pediatría Del Uruguay.* 80:37-41.

BIBLIOGRAFÍA

502. Paganini, H. R., P. Della Latta, A. Soto, L. Casimir, A. Mónaco, V. Verdaguer, G. Berberian, M. T. Rosanova, F. González, and C. Sarkis. 2010. Bacteriemias por *Staphylococcus aureus* adquiridas en la comunidad: 17 años de experiencia en niños de la Argentina. Archivos Argentinos De Pediatría. 108:311-317.
503. Sanz Carabaña, P., A. Ramos Martínez, A. Asensio Vegas, M. J. García Navarro, and M. Linares Rufo. 2006. Mortalidad y factores pronósticos en pacientes hospitalizados por bacteriemia adquirida en la comunidad. Anales de medicina interna. 66-72.
504. Vallés, J., J. Rello, A. Ochagavía, J. Garnacho, and M. A. Alcalá. 2003. Community-acquired bloodstream infection in critically ill adult patients: impact of shock and inappropriate antibiotic therapy on survival. CHEST Journal. 123:1615-1624.
505. Pazos Añón, R., R. Fernández Rodríguez, I. Paz Vidal, A. Tinajas, I. Cantón, V. Abel, R. González, R. Martínez, P. Gayoso, and O. Fernández Álvarez. 2001. Factores pronósticos de la bacteriemia: estudio prospectivo. Anales de Medicina Interna. 23-28.
506. Leibovici, L., Z. Samra, H. Konigsberger, M. Drucker, S. Ashkenazi, and S. D. Pitlik. 1995. Long-term survival following bacteremia or fungemia. JAMA: The Journal of the American Medical Association. 274:807-812.
507. Ibrahim, E. H., G. Sherman, S. Ward, V. J. Fraser, and M. H. Kollef. 2000. The influence of inadequate antimicrobial treatment of bloodstream infections on patient outcomes in the ICU setting. CHEST Journal. 118:146-155.
508. Baron, E. J. 2006. Blood cultures do not require discarding of first few ml of blood. ClinMicroNotes 21:2006. .
509. Wisser, D., K. Van Ackern, E. Knoll, H. Wisser, and T. Bertsch. 2003. Blood loss from laboratory tests. Clin. Chem. 49:1651-1655.
510. Thavendiranathan, P., A. Bagai, A. Ebidia, A. S. Detsky, and N. K. Choudhry. 2005. Do blood tests cause anemia in hospitalized patients? Journal of General Internal Medicine. 20:520-524.
511. Holmes, K. R. 1998. Comparison of push-pull versus discard method from central venous catheters for blood testing. Journal of Intravenous Nursing: The Official Publication of the Intravenous Nurses Society. 21:282.
512. Dwivedi, S., R. Bhalla, D. R. Hoover, and M. P. Weinstein. 2009. Discarding the initial aliquot of blood does not reduce contamination rates in intravenous-catheter-drawn blood cultures. J. Clin. Microbiol. 47:2950-2951.

BIBLIOGRAFÍA

513. Warren, J. R., and F. Graham. 1950. The effect of heparin on the growth of bacteria and yeasts. *J. Bacteriol.* 60:171-174.
514. Christman, J. F., and D. G. Doherty. 1956. The antimicrobial action of heparin. *J. Bacteriol.* 72:433-435.
515. Bryant, J., and C. Strand. 1987. Reliability of blood cultures collected from intravascular catheter versus venipuncture. *Am. J. Clin. Pathol.* 88:113.
516. DesJardin, J. A., M. E. Falagas, R. Ruthazer, J. Griffith, D. Wawrose, D. Schenkein, K. Miller, and D. R. Snyderman. 1999. Clinical utility of blood cultures drawn from indwelling central venous catheters in hospitalized patients with cancer. *Ann. Intern. Med.* 131:641-647.
517. Everts, R. J., E. N. Vinson, P. O. Adholla, and L. B. Reller. 2001. Contamination of catheter-drawn blood cultures. *J. Clin. Microbiol.* 39:3393-3394.
518. Norberg, A., N. C. Christopher, M. L. Ramundo, J. R. Bower, and S. A. Berman. 2003. Contamination rates of blood cultures obtained by dedicated phlebotomy vs intravenous catheter. *JAMA: The Journal of the American Medical Association.* 289:726-729.
519. Ruge, D. G., R. L. Sandin, S. A. Siegelski, J. N. Greene, and N. Johnson. 2002. Reduction in blood culture contamination rates by establishment of policy for central intravenous catheters. *Lab Medicine.* 33:797-800.
520. Everts, R. J., and H. Harding. 2004. Catheter-drawn blood cultures: is withdrawing the heparin lock beneficial? *Pathology.* 36:170-173.
521. Penwarden, L. M., and P. G. Montgomery. 2002. Developing a protocol for obtaining blood cultures from central venous catheters and peripheral sites. *Clin. J. Oncol. Nurs.* 6:268-270.
522. Rogers, K. L., P. D. Fey, and M. E. Rupp. 2009. Coagulase-negative staphylococcal infections. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 23:73-98.
523. Anderson, J., F. Eftekhari, M. Aird, and J. Hammond. 1979. Role of bacterial growth rates in the epidemiology and pathogenesis of urinary infections in women. *J. Clin. Microbiol.* 10:766-771.
524. Gottenbos, B., H. Mei, and H. J. Busscher. 2000. Initial adhesion and surface growth of *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa* on biomedical polymers. *J. Biomed. Mater. Res.* 50:208-214.

BIBLIOGRAFÍA

525. Gerard J. Tortora, Berdell R. Funke, Christine L. Case. 2007. Microbiology: An Introduction. Panamericana S.A., Pag. 175.
526. Guedon, C., M. Nouvellon, O. Lalaude, and E. Lerebours. 2002. Efficacy of antibiotic-lock technique with teicoplanin in *Staphylococcus epidermidis* catheter-related sepsis during long-term parenteral nutrition. *J. Parenter. Enteral Nutr.* 26:109-113.
527. Rodríguez-Martínez, J. M., and Á. Pascual. 2008. Actividad de los antimicrobianos en biocapas bacterianas. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 26:107-114.
528. Toté, K., D. V. Berghe, M. Deschacht, K. De Wit, L. Maes, and P. Cos. 2009. Inhibitory efficacy of various antibiotics on matrix and viable mass of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 33:525-531.
529. Vila, J., A. Soriano, and J. Mensa Pueyo. 2008. Bases moleculares de la adherencia microbiana sobre los materiales protésicos. Papel de las biocapas en las infecciones asociadas a los materiales protésicos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.* 26:48-55.
530. Haimi-Cohen, Y., E. M. Vellozzi, and L. G. Rubin. 2002. Initial concentration of *Staphylococcus epidermidis* in simulated pediatric blood cultures correlates with time to positive results with the automated, continuously monitored BACTEC blood culture system. *J. Clin. Microbiol.* 40:898-901.
531. Schelonka, R. L., M. K. Chai, B. A. Yoder, D. Hensley, R. M. Brockett, and D. P. Ascher. 1996. Volume of blood required to detect common neonatal pathogens. *J. Pediatr.* 129:275-278.
532. Venditto, M., S. Tezenas du Montcel, J. Robert, D. Trystam, J. Dighiero, D. Hue, C. Bessette, G. Deray, and L. Mercadal. 2010. Effect of catheter-lock solutions on catheter-related infection and inflammatory syndrome in hemodialysis patients: heparin versus citrate 46% versus heparin/gentamicin. *Blood Purif.* 29:268-273.
533. FDA issues warning on triCitrasol® dialysis catheter anticoagulant. 2000. FDA Talk Paper T00-16. 14-4. .
534. Guerraoui, A., E. Dacosta, and B. Roche. 2004. Emergence of multiresistant *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) after lock antibiotic regimen by gentamicin in permanent hemodialysis catheters. Perspective study, 1999–2003. *J. Am. Soc. Nephrol.* 15:368A.
535. DOGRA, G. 2006. Preventing catheter-related infections with antibiotic lock solutions: Are we spoilt for choice?(Editorial). *Nephrology.* 11:297-298.

BIBLIOGRAFÍA

536. Manierski, C., and A. Besarab. 2006. Antimicrobial locks: putting the lock on catheter infections. *Advances in Chronic Kidney Disease*. 13:245-258.
537. Rodríguez-Aranda, A., M. Daskalaki, J. Villar, F. Sanz, J. R. Otero, and F. Chaves. 2009. Nosocomial spread of linezolid-resistant *Staphylococcus haemolyticus* infections in an intensive care unit. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 63:398-402.
538. Knobloch, J. K. -, M. Nedelmann, K. Kiel, K. Bartscht, M. A. Horstkotte, S. Dobinsky, H. Rohde, and D. Mack. 2003. Establishment of an arbitrary PCR for rapid identification of Tn917 insertion sites in *Staphylococcus epidermidis*: characterization of biofilm-negative and nonmucoid mutants. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:5812-5818.
539. Knobloch, J. K., K. Bartscht, A. Sabottke, H. Rohde, H. H. Feucht, and D. Mack. 2001. Biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis* depends on functional RsbU, an activator of the sigB operon: differential activation mechanisms due to ethanol and salt stress. *J. Bacteriol.* 183:2624-2633.
540. Rohde, H., J. K. Knobloch, M. A. Horstkotte, and D. Mack. 2001. Correlation of biofilm expression types of *Staphylococcus epidermidis* with polysaccharide intercellular adhesin synthesis: evidence for involvement of icaADBC genotype-independent factors. *Med Microbiol Immunol.* 190:105-112.
541. Costerton, J. W., L. Montanaro, and C. R. Arciola. 2005. Biofilm in implant infections: its production and regulation. *Int. J. Artif. Organs.* 28:1062-1068.
542. Obst, U., T. Schwartz, and H. Volkmann. 2006. Antibiotic resistant pathogenic bacteria and their resistance genes in bacterial biofilms. *Int. J. Artif. Organs.* 29:387-394.
543. de Allori, M., Cristina Gaudio, M. A. Jure, C. Romero, and M. de Castillo Elena Cecilia. 2006. Antimicrobial resistance and production of biofilms in clinical isolates of coagulase-negative *Staphylococcus* strains. *Biol. Pharm. Bull.* 29:1592-1596.
544. El-Mahallawy, H., S. A. Loutfy, M. El-Wakil, A. El-Al, and H. Morcos. 2009. Clinical implications of icaA and icaD genes in coagulase negative staphylococci and *Staphylococcus aureus* bacteremia in febrile neutropenic pediatric cancer patients. *Pediatr Blood Cancer.* 52:824-828.
545. Touati, A., W. Achour, M. S. Abbassi, and A. Ben Hassen. 2007. Detection of ica genes and slime production in a collection of *Staphylococcus epidermidis* strains from catheter-related infections in neutropenic patients. *Pathol. Biol. (Paris).* 55:277-282. doi: 10.1016/j.patbio.2007.03.003.

BIBLIOGRAFÍA

546. Chokr, A., D. Watier, H. Eleaume, B. Pagon, J. C. Ghnassia, D. Mack, and S. Jabbouri. 2006. Correlation between biofilm formation and production of polysaccharide intercellular adhesin in clinical isolates of coagulase-negative staphylococci. *International Journal of Medical Microbiology*. 296:381-388.
547. Vegh, Z., M. Gacs, V. M. KOJAL, and M. Laboratórium. 1990. Correlation of slime production and pathogenicity of coagulase-negative staphylococci]. *Orv. Hetil*. 4:5.
548. Arciola, C. R., L. Baldassarri, and L. Montanaro. 2001. Presence of *icaA* and *icaD* genes and slime production in a collection of staphylococcal strains from catheter-associated infections. *J. Clin. Microbiol.* 39:2151-2156.
549. Muller, E., S. Takeda, H. Shiro, D. Goldmann, and G. B. Pier. 1993. Occurrence of capsular polysaccharide/adhesin among clinical isolates of coagulase-negative staphylococci. *J. Infect. Dis.* 168:1211-1218.
550. Arciola, C. R., L. Baldassarri, and L. Montanaro. 2002. In catheter infections by *Staphylococcus epidermidis* the intercellular adhesion *ica* locus is a molecular marker of the virulent slime-producing strains. *J. Biomed. Mater. Res.* 59:557-562.
551. Ammendolia, M. G., R. Di Rosa, L. Montanaro, C. R. Arciola, and L. Baldassarri. 1999. Slime production and expression of the slime-associated antigen by staphylococcal clinical isolates. *J. Clin. Microbiol.* 37:3235-3238.
552. Henning, S., J. Peter-Katalinić, and G. Pohlentz. 2007. Structure elucidation of glycoproteins by direct nanoESI MS and MS/MS analysis of proteolytic glycopeptides. *J. Mass Spectrom.* 42:1415-1421.
553. O'Gara, J. P. 2007. *ica* and beyond: biofilm mechanisms and regulation in *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol. Lett.* 270:179-188.
554. Handke, L. D., K. M. Conlon, S. R. Slater, S. Elbaruni, F. Fitzpatrick, H. Humphreys, W. P. Giles, M. E. Rupp, P. D. Fey, and O'Gara J.P. 2004. Genetic and phenotypic analysis of biofilm phenotypic variation in multiple *Staphylococcus epidermidis* isolates. *J. Med. Microbiol.* 53:367-374.
555. Vandecasteele, S. J., W. E. Peetermans, R. Merckx, and J. V. Eldere. 2003. Expression of biofilm-associated genes in *Staphylococcus epidermidis* during in vitro and in vivo foreign body infections. *J. Infect. Dis.* 188:730.

ANEXO I
RESUMEN EN ESPAÑOL

**PREVENCIÓN DE LA BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL
CATÉTER EN PACIENTES SOMETIDOS A HEMODIÁLISIS
MEDIANTE EL ESTUDIO DE LA COLONIZACIÓN ENDOLUMINAL
DEL CATÉTER**

INTRODUCCIÓN

La técnica de hemodiálisis (HD) precisa de un continuo y seguro acceso a la circulación sistémica y las fistulas arteriovenosas o injertos son preferibles como accesos vasculares. Sin embargo, aproximadamente el 25% de los pacientes en HD usan catéteres como acceso vascular, suponiendo la bacteriemia relacionada con el catéter (BRC) el mayor riesgo de morbilidad. La incidencia de infecciones de BRC en pacientes en HD se documenta entre 2,5 y 5,5 casos por 1.000 días de catéter. *Staphylococcus* spp. es responsable de la mayoría de las infecciones relacionadas con el catéter. La colonización bacteriana de la superficie intraluminal del catéter se produce en un alto porcentaje de los catéteres de HD. Los microorganismos se adhieren al material del catéter y forman *biocapas*, permitiendo la colonización persistente y posterior diseminación hematógica. Aunque se han usado diferentes tipos de muestras para investigar la colonización del catéter, en la actualidad no existe clara recomendación de que método utilizar. En este estudio se plantea utilizar un método de fácil implementación y con el mínimo riesgo para el paciente. Conocer la dinámica de colonización endoluminal del catéter (CEC) en los pacientes en HD puede ser útil para predecir qué pacientes están en riesgo de desarrollar BRC. Esto permitiría detectar los pacientes que podrían beneficiarse de estrategias preventivas específicas. El objetivo de este estudio fue determinar el valor de los cultivos de muestras de colonización endoluminal del catéter para predecir BRC.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se monitorizó la cohorte de pacientes en HD en nuestra institución que acudía a HD portando catéteres venosos centrales tunelizados (CVCt) con *cuff*, entre diciembre de 2006 y junio de 2008 en el Hospital Universitario 12 de Octubre de Madrid y en un centro de diálisis adscrito a dicho hospital. La información demográfica y clínica se recogió de forma prospectiva en todos los pacientes en HD. Se evaluó la CEC cada 15 días inmediatamente antes de la HD. Los primeros 5 ml de líquido del catéter que normalmente se desechan en el proceso de conexión del paciente al equipo de HD, se utilizaron para estudiar la CEC. Esta muestra contiene una mezcla de solución de heparina y de la sangre, aspirándose por separado la luz arterial y venosa. Las muestras fueron inoculadas en frascos de hemocultivo (HC) aerobias que se incubaron durante 5 días en un sistema automatizado. En los cultivos positivos se registró el tiempo de crecimiento. La identificación bacteriana y los estudios de sensibilidad a los antimicrobianos se realizaron mediante los métodos habituales de laboratorio. La caracterización molecular de los aislamientos de estafilococos coagulasa negativos (ECN) se realizó mediante electroforesis en campo pulsante (ECP) después de la digestión de los extractos de ADN con el enzima *Sma*I. En las cepas de *Staphylococcus epidermidis* se investigó la presencia de los genes *icaA* e *icaD*, y la secuencia de inserción IS256 mediante PCR. Además, la producción de *biocapa* fue estudiada mediante el cultivo en agar Rojo Congo. Este estudio se realizó en cepas nosocomiales (grupo BRC y grupo No-BRC) y cepas comunitarias (voluntarios sanos).

RESULTADOS

Durante el período de estudio de 18 meses, se incluyeron 51 pacientes que portaron 64 CVCt. Catorce pacientes (27,4%) sufrieron 21 episodios de BRC. La

ANEXO I

incidencia de BRC fue de 1,65 episodios/1.000 días de catéter, con *S. epidermidis* como la causa más común de infección (76,2%). Todos los episodios de BRC fueron precedidos por muestras positivas de CEC. El grupo de pacientes en HD que desarrolló BRC tuvo mayor proporción de muestras positivas de CEC que el grupo No-BRC (100% vs. 5,4%, $p < 0,001$), y la rama arterial se colonizó en mayor proporción que la rama venosa (16,4% vs. 9,9%). En el momento de la colonización, el CVc llevaba insertado una media de 378 días. El tiempo medio entre la detección de CEC hasta el diagnóstico de BRC fue de 41 días, y en *S. epidermidis*, 53 días. La validez de las muestras de CEC para predecir BRC fueron: sensibilidad 95,2%, especificidad 86,2%, valor predictivo positivo 83,3% y valor predictivo negativo 96,2%. Un tiempo de positividad ≤ 14 horas tuvo un 52,1% de sensibilidad y un 97,7% de especificidad en la predicción de BRC por *S. epidermidis*.

Todos los episodios de BRC causados por *S. epidermidis* fueron causados por la misma cepa que se halló en las muestras de CEC (12 pacientes, 16 episodios), según el estudio de ECP. Los aislamientos de los diferentes pacientes pertenecieron a diferentes tipos clonales. El estudio de las cepas *S. epidermidis* reveló que los aislamientos nosocomiales poseían en mayor porcentaje los genes *icaA* e *icaD*, y la secuencia de inserción IS256, que los aislamientos comunitarios. Sin embargo, la producción de *biocapa*, fue igual en ambos grupos de aislamientos. Se encontró asociación entre la detección de los genes *icaA*, *icaD* y la secuencia de inserción IS256 con multirresistencia.

DISCUSIÓN

Este estudio revela la importancia de la dinámica de la CEC en la predicción de BRC. Se observó que todos los pacientes en HD que desarrollaron BRC habían presentado previamente muestras de CEC por el mismo microorganismo que finalmente

ANEXO I

desarrolló BRC. Respecto a la etiología de la BRC causada por *S. epidermidis*, se encontró el mismo patrón clonal en las muestras de CEC y HC. Las muestras de CEC tuvieron un tiempo de positividad inferior en el grupo BRC causada por *S. epidermidis* que en el grupo no-BRC, lo que sugiere que el inóculo en la luz del catéter era superior en el grupo BRC. Un tiempo de positividad elevado es quizás indicativo de una fase temprana de CEC sin bacteriemia inminente. El conocimiento del patrón de resistencia antimicrobiana del agente causante de la colonización permitiría la instauración de estrategias de intervención específicas para cada paciente. Esto permitiría un tratamiento antibiótico precoz y específico, y aumentaría la probabilidad de mantener el catéter con un menor riesgo en términos de desarrollo de resistencia bacteriana. El estudio de los posibles factores de virulencia sugiere que los genes *icaA*, *icaD* y la secuencia de inserción IS256 son elementos características en el genoma de aislamientos nosocomiales de *S. epidermidis* multirresistentes.

CONCLUSIONES

Este estudio muestra que mediante la monitorización de la colonización endoluminal del CVCt es posible identificar un grupo de pacientes en HD con elevada probabilidad de desarrollar BRC. Estos cultivos de vigilancia, basados en muestras de fácil acceso, se podrían utilizar para identificar a los pacientes en HD con colonización significativa del catéter. Por lo tanto, estos resultados podrían ser utilizados para la clasificación individualizada de pacientes que podrían beneficiarse de las medidas de intervención específicas y ayudar a evitar la administración generalizada de terapia antimicrobiana profiláctica, evitando así el desarrollo de resistencia bacteriana.

RESUMEN EN INGLÉS

PREVENTION OF CATHETER-RELATED BLOODSTREAM INFECTIONS IN HEMODIALYSIS PATIENTS BY ENDOLUMINAL COLONIZATION SURVEILLANCE

INTRODUCTION

Hemodialysis (HD) requires repeated reliable access to the systemic circulation, and arteriovenous fistulas or grafts are the preferred modes of vascular access. However, approximately 25% of HD patients use catheters for their vascular access, making catheter-related bloodstream infections (CRBI) a major risk for morbidity. The incidence of catheter-related bloodstream infections in dialysis patients is reported to be 2.5–5.5 cases per 1000 catheter-days. *Staphylococcus* spp. is responsible for most catheter-related infections. Bacterial colonization of the intraluminal surface of the catheter occurs in a high percentage of HD cases. The microorganisms adhere to the catheter material and form *biofilms*, allowing consequently sustained colonization and hematogenous dissemination. Although several different sample types have been used to investigate catheter colonization, nowadays it doesn't exist a clear recommendation. We wanted to use a readily accessible method to predict the risk of CRBI with minimum risk for the patient.

Understanding the dynamics of endoluminal catheter (ECC) colonization in HD patients may be useful to predict which patients are at risk of developing CBRI and would permit the triage of those patients who could benefit of specific preventive strategies. The objective of this study was to determine the value of endoluminal catheter colonization culture samples to predict CRBI.

MATERIAL AND METHODS

We followed a cohort of HD patients in our institution that underwent HD with tunneled cuffed central venous catheters (tCVC) between December 2006 and June 2008 at Hospital Universitario 12 de Octubre in Madrid and in a dialysis center affiliated with the hospital. Demographic and clinical information were collected prospectively on all HD patients. Colonization of the inner catheter lumen was assessed every 15 days immediately before HD. The first ~5mL of catheter fluid that is typically discarded in the process of connecting the patient to the HD machine was used to study the ECC. This sample contains a mixture of heparin solution and blood which were separately aspirated from the arterial and venous lumens. Samples were inoculated into aerobic culture bottles which were incubated for 5 days in an automated blood culture system and the time to positivity was noted. All samples were processed according to routine laboratory methods. Molecular characterization of coagulase-negative staphylococci (CoNS) isolates was performed by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) following digestion of DNA extracts with *Sma*I. Moreover, we studied in *S. epidermidis* strains the presence of *icaA* and *icaD* genes, and insertion sequence IS256 by PCR. Furthermore the production of *biofilm* was studied by culture on Congo Red Agar (CRA). This study was performed in nosocomial (CRBI and No-CRBI group) and community (health voluntaries) strains.

RESULTS

During the 18-month study period, we enrolled 51 patients who required 64 tCVC. Fourteen patients (27,4%) had 21 CRBI episodes. The incidence of CRBI was 1,65 episodes/1000 catheter-days, with *Staphylococcus epidermidis* being the common cause of infection (76,2%). All episodes were preceded by ECC positive samples. HD patients with CRBI had more frequent ECC than those in the non-CRBI group (100% vs. 5,4%,

$p < 0,001$), and arterial lumen was proportionally higher colonized than venous lumen (16,4% vs. 9,9%). At the time of colonization, tCVC had been in place for a mean of 378 days. The mean time between ECC and diagnosis of CRBI was 41 days, and for *S. epidermidis*, 53 days. The validity values of ECC samples to predict CRBI were: sensitivity 95,2%; specificity, 86,2%, positive predictive value, 83,3% and negative predictive value, 96,2%. Time to positivity ≤ 14 hours was 52,1% sensitive and 97,7% specific in prediction of *S. epidermidis* CRBI.

All *S. epidermidis* isolates of CRBI group obtained from HC samples, for each patient, exhibited identical biotype and antimicrobial susceptibility patterns as ECC samples (12 patients, 16 episodes). The isolates from each patient were shown to belong to different clonal types. Moreover, the study in *S. epidermidis* strains revealed that nosocomial isolates carry in mayor percentage the *icaA*, *icaD* and IS256 genes than community isolates, however production of *biofilm*, was equal in both. Detection of *icaA*, *icaD* and IS256 was found to be associated with multiresistance.

DISCUSSION

This study highlights the importance of the dynamics of catheter colonization in prediction of CRBI. We observed that all HD patients who developed CRBI had presented previously with ECC samples by the same strain of microorganism that was ultimately responsible for their bloodstream infection. The etiology of CRBI caused by *S. epidermidis* involved colonization of the catheter with a single clonal population of the organism and subsequent development of CRBI. ECC samples had a lower time to positivity in the *S. epidermidis* CRBI group than in the non-CRBI group, suggesting that the inoculum in the catheter hub was much higher. A long time to positivity is perhaps

ANEXO II

indicative of an early ECC phase without concurrent or imminent bacteremia. The knowledge of the antimicrobial resistant pattern of the colonizing agent would also enable specific intervention strategies to be tailored for individual patients. This would allow an early and targeted antimicrobial therapy and would increase the likelihood of catheter salvage with reduced risk in terms of the development of bacterial drug resistance. Possible virulence factors were studied and compared in nosocomial and community strains. The data suggest that *icaA*, *icaD* and IS256 are characteristic elements in the genome of multiresistant nosocomial *S. epidermidis* isolates.

CONCLUSIONS

This study shows that by monitoring endoluminal colonization of tCVC we were able to identify a group of HD patients who were at risk of developing CRBI. These surveillance cultures, based on easily accessible samples, could be used to identify HD patients with a significant colonization of the catheter. These results could therefore be used to triage individual HD patients who might benefit from specific intervention measures and to help on avoid widespread administration of prophylactic antimicrobial therapy, thus preventing the development of bacterial resistance.

ANEXO III
CONSENTIMIENTO INFORMADO

CONSENTIMIENTO INFORMADO

**ESTUDIO: PREVENCIÓN DE LA BACTERIEMIA EN PACIENTES EN
HEMODIÁLISIS PORTADORES DE CATÉTER VENOSO CENTRAL
TUNELIZADO**

Usted padece una insuficiencia renal crónica en tratamiento con hemodiálisis periódicas, y se dializa a través de un catéter insertado en una vena central a través del cual se extrae sangre que se depura en el monitor de hemodiálisis y, una vez limpia, pasa de nuevo a su circulación a través del catéter.

El catéter está en contacto con la piel, y a pesar de extremos cuidados higiénicos puede llegar a contaminarse con microorganismos que, en caso de pasar a la sangre, pueden producir una infección importante.

Para evitar que se formen coágulos en su catéter, se sella con heparina al finalizar cada sesión de hemodiálisis. En la siguiente sesión de hemodiálisis se retira la heparina, que se encuentra mezclada con sangre, y se desecha. Esta muestra del catéter que se desecha, se utilizaría para cultivarla con la finalidad de detectar precozmente posibles infecciones en las luces del catéter, incluso antes de que usted presente síntomas (fiebre, escalofríos, malestar general). Esto permite establecer un tratamiento precoz con antibióticos o sellado del catéter. La extracción de las muestras se realizará de forma rutinaria y para ello se empleará la sangre que en condiciones normales se desecha, por lo que no supone ninguna molestia para usted ni es necesario la extracción de sangre adicional.

La realización de este estudio cuenta con la aprobación del Comité de Ética y de Investigación Clínica del Hospital 12 de Octubre. Su participación en el estudio es voluntaria, si decide no participar o retirarse del mismo una vez iniciado no tiene que dar ninguna explicación ni esto influirá en la atención médica que se le seguirá dispensando en este Hospital.

En caso de infección sus médicos le informarán de la misma, así como del tratamiento y otros procedimientos encaminados a su erradicación. En el caso de necesitar información adicional, no dude en consultar a los médicos responsables de diálisis.

ANEXO III

DECLARACIONES Y FIRMAS

Me han explicado de forma satisfactoria en qué consiste este estudio y tengo conocimiento de la finalidad del mismo. Se me ha ofrecido la oportunidad de revocar este consentimiento en cualquier momento. He comprendido todo lo anterior perfectamente y DOY MI CONSENTIMIENTO

Nombre del paciente.....

Firma

Nombre del médico.....

Firma

Madrid, a de.....de 2.007

ANEXO IV
DOCUMENTO RECOGIDA DE
VARIABLES

ANEXO IV

RECOGIDA DE VARIABLES

ESTUDIO DE COLONIZACIÓN DEL CATÉTER CENTRAL EN PACIENTES EN HEMODIÁLISIS

1. VARIABLES DEMOGRÁFICAS Y CLÍNICAS BASALES:

NOMBRE _____ FN _____

SEXO _____ N° Historia: _____ Fecha inicio de hemodiálisis: _____

Causa de Insuf Renal: _____

Enfermedades de Base _____

Otros datos clínicos: _____

2. CATÉTERES PREVIOS para Hemodiálisis:

N° de catéteres previos: _____ Catéter n° : ____ Localización
(yugular/subclavia/femoral D/I): _____

Fecha inserción y retirada: _____

Causa de retirada: _____

-Catéter n° : _____ Localización (yugular/subclavia/femoral D/I): _____

Fecha inserción y retirada: _____

Causa de retirada: _____

-Catéter n°: _____ Localización (yugular/subclavia/femoral D/I): _____

Fecha inserción y retirada: _____

Causa de retirada: _____

ANEXO IV

Infecciones relacionadas con el catéter (fecha, tipo de infección y microorganismo):

Observaciones:

3. CATÉTER ACTUAL:

Centro de hemodiálisis:

Fecha inserción: _____ N° catéter: _____

Tipo de catéter: _____

Localización (yugular/subclavia/femoral D/I):

Infecciones previas (desde fecha de inserción catéter hasta fecha de entrada en el estudio):

NO/SI (En caso afirmativo: recoger fecha, tipo de infección, microorganismo, y tratamiento antibiótico _____

Muestras tomadas durante la duración del estudio relacionadas con la colonización del CVCT:

1. Fecha: _____ Ex. Nasal: _____ Ex. pericatóter:

ANEXO V

DOCUMENTO RECOGIDA DE
INTERVENCIONES

ANEXO V

INTERVENCIONES

ESTUDIO DE COLONIZACIÓN DEL CATÉTER CENTRAL EN PACIENTES EN HEMODIÁLISIS

INTERVENCIÓN CATÉTER ACTUAL

Datos relacionados con el catéter (referidos a la fecha de la sesión de HD donde se recogen las muestras)

1. Fecha: _____ N° intervención _____

Catéter (funcionamiento): correcto/disfunción Si disfunción: invertido obstruido
otras _____

Indicar si manipulaciones en catéter y tipo:

Sellado ATB/Anticoagulante

_____ ATBsistémicos _____

Indicar incidencias en las sesiones de HD, infecciones, y
antibióticos _____

N° Muestra	Tipo de muestra	Positividad Gram/Botella	N° UFC/Tiempo crec. (horas).	Identificación
	Liq. Sellado rama venosa			
	Liq. Sellado rama arterial			
	Rama venosa			
	Rama arterial			

observaciones _____

ANEXO VI

GRADO DE RECOMENDACIONES

CIENTÍFICAS

GRADO DE RECOMENDACIONES CIENTÍFICAS

Las recomendaciones científicas se establecen en función de diferentes criterios de evidencia relacionados con la calidad de los artículos que se señalan en la bibliografía. A continuación se señalan los niveles y grados de recomendación-

Grados de evidencia científica empleados en la Sociedad Española de Nefrología.

Nivel	Tipo de evidencia científica
Evidencia A	La evidencia científica procede de metaanálisis de ensayos clínicos controlados.
Evidencia B	La evidencia científica procede de estudios clínicos observacionales, estudios experimentales, estudios Comparativos y estudios de correlación.
Evidencia C	La evidencia científica procede de trabajos monográficos elaborados por expertos, experiencia clínica u opiniones emitidas por autoridades del tema.
Evidencia D	La evidencia científica procede de opinión de consenso por el grupo de trabajo

ANEXO VI

Recomendación y grado de evidencia científica según las guías IDSA.

Grado	Recomendación
A	Buena evidencia para recomendar su uso
B	Moderada evidencia para recomendar su uso
C	Pobre evidencia para recomendar su uso
D	Moderada evidencia para desaconsejar su uso
E	Buena evidencia para desaconsejar su uso

Nivel	Tipo de evidencia científica
I	Evidencia de uno, o más de un ensayo clínico, aleatorizado y controlado
II	Evidencia uno, o más de un ensayo clínico no randomizado, estudio de cohortes o casos-control, preferiblemente de más de un centro
III	Recomendación de expertos, basada en experiencia clínica o descripción de casos

ANEXO VII
PUBLICACIONES RELACIONADAS
CON ESTA TESIS

PUBLICACIONES RELACIONADAS CON ESTA TESIS

PUBLICACIONES EN REVISTAS CIENTÍFICAS INTERNACIONALES

- “Endoluminal colonization as a risk factor for coagulase-negative staphylococcal catheter-related bloodstream infections in haemodialysis patients”. Almudena Rodríguez-Aranda, José María Alcázar, Francisca Sanz, Fernando Chaves. **Nephrology Dialysis Transplantation** 2011; 26, (3): 948-955
- “Nosocomial Spread of Linezolid-resistant *Staphylococcus haemolyticus* infections in an Intensive Care Unit” Diagnostic Microbiology and Infectious Disease; Rodríguez-Aranda A, Daskalaki M, Villar J, Sanz F, Otero JR, Chaves F. **Diagnostic Microbiology & Infectious Disease**. 2009 63 (4): 398-402.

COMUNICACIONES PRESENTADAS EN CONGRESOS INTERNACIONALES

- “Clonal spread of linezolid-teicoplanin-resistant *Staphylococcus haemolyticus* in ICU patients in a tertiary hospital”. A. Rodríguez-Aranda, M. Daskalaki, J. Villar, F. Sanz, J.R. Otero, F. Chaves.
XVIII Congreso Europeo de Microbiología clínica y enfermedades Infecciosas. (Barcelona, Abril 2008).

COMUNICACIONES PRESENTADAS EN CONGRESOS NACIONALES

- “Estudio de la colonización endoluminal del Catéter Venoso Central como predictor de la Bacteriemia Relacionada con el Catéter en pacientes en Hemodiálisis”. A Rodríguez-Aranda JM Alcázar, F Sanz, F García-Martín, JM Aguado, M Daskalaki, F Chaves.

XIII Congreso Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. (Madrid Mayo 2008).

- “Bacteriemia relacionada con el catéter en hemodiálisis: estudio de la colonización endoluminal del catéter permanente central”. Alcázar JM, Rodríguez-Aranda A, García-Martín F, Martín Navarro J, Sanz F, Daskalaki M, Chaves F, Praga M.

XXXVIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Nefrología (San Sebastián Octubre 2008).

- “Estudio de los genes icaA, icaD y la secuencia de inserción IS256 como marcadores genéticos de invasividad en estafilococos coagulasa negativos en pacientes sometidos a hemodiálisis”. Rodríguez Aranda A, Alcázar JM, Sanz F, García F, Rodríguez Otero JJ, Chaves F

XIII Reunión de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. (Sevilla Junio 2009).

Original Article

Endoluminal colonization as a risk factor for coagulase-negative staphylococcal catheter-related bloodstream infections in haemodialysis patients

Almudena Rodríguez-Aranda¹, Jose María Alcazar², Francisca Sanz¹, Florencio García-Martín², Joaquín R. Otero¹, Jose María Aguado³ and Fernando Chaves¹

¹Servicio de Microbiología Clínica, ²Servicio de Nefrología and ³Unidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario 12 de Octubre, Avenida de Córdoba s/n, Madrid 28041, Spain

Correspondence and offprint requests to: Fernando Chaves; E-mail: fchaves.hdoc@ssslud.madrid.org

Abstract

Background. Approximately 25% of haemodialysis (HD) patients use catheters as vascular access. Catheter-related bloodstream infections (CRBSI) are a major risk in this population. The objective of our study was to determine whether endoluminal catheter colonization (ECC) predicts CRBSI.

Methods. We followed up a cohort of HD patients in our institution who underwent HD with tunnelled cuffed central venous catheters (TCC) between December 2006 and June 2008. Colonization of the inner catheter lumen was assessed every 15 days immediately before HD by culture of blood-heparin mixture and the time to positivity (TTP) was recorded by the BacT/Alert automated system. CRBSI was confirmed by differential TTP (>2 h) between TCC and peripheral blood cultures.

Results. We studied 51 patients who required 64 TCC. The incidence of CRBSI was 1.65 episodes per 1000 catheter-days, with *Staphylococcus epidermidis* being the most common cause of infection (76.2%). ECC was more frequent in the CRBSI group than in the non-CRBSI group (100 vs 5.4%, $P < 0.001$). For *S. epidermidis* CRBSIs, the median time from ECC to CRBSI was 31.5 days (interquartile range, 27.0–79.0). The sensitivity, specificity and negative and positive predictive values of arterial lumen cultures for *S. epidermidis* CRBSIs were 100, 96.3, 92.3 and 100%, respectively, while for venous culture, these values were 92.3, 96.3, 92.3 and 96.3%, respectively. For predicting *S. epidermidis* CRBSI, endoluminal cultures with a TTP of ≤ 14 h had sensitivity and specificity of 52.1 and 97.7%, respectively.

Conclusions. This study shows that ECC may predict the risk of developing CRBSI. Surveillance cultures could, therefore, be used to triage individual HD patients who might benefit from specific intervention measures.

Keywords: bacteremia; catheter colonization; catheter-related bloodstream infection; haemodialysis; *Staphylococcus epidermidis*

Introduction

Haemodialysis (HD) requires repeated reliable access to the systemic circulation, and arteriovenous fistulas or grafts are the preferred modes of vascular access. However, for a variety of reasons, ~25% of HD patients use catheters for this purpose and these patients are at highest risk of infection [1–4].

Among HD patients, infection is the most common cause of morbidity and the second most common cause of death [5,6], and bacteraemia accounts for more than 75% of deaths due to infection [7]. The incidence of catheter-related bloodstream infections (CRBSIs) in dialysis patients is reported to be 0.8–5.5 cases per 1000 catheter-days [8–16]. Gram-positive bacteria are responsible for most catheter-related infections and infection with coagulase-negative staphylococci (CoNS) and *Staphylococcus aureus* accounts for 40–81% of cases [8,17–20]. Although previously considered a mere saprophyte, in the last two decades, *Staphylococcus epidermidis* has emerged as an important nosocomial pathogen and the leading cause of foreign-body infection [21].

Bacterial colonization of the intraluminal surface of the catheter occurs in a high percentage of HD cases [3,22–24]. Endoluminal colonization is a step in the pathogenesis of CRBSI and precedes many symptoms of peripheral bacteraemia and sepsis [25,26]. The microorganisms adhere to the catheter material and form biofilms, allowing sustained infection and haematogenous dissemination [27].

Several studies of surveillance cultures of tunnelled cuffed catheter (TCC) exit sites in HD patients suggest that they are not useful in predicting subsequent catheter-related infections [28,29]. However, there is conflicting evidence regarding the frequency with which endoluminal colonization of TCC leads to bacteraemia [25,30].

Understanding the dynamics of endoluminal catheter colonization (ECC) in HD patients may be useful in pre-

dicting which patients are at risk of developing CRBSI and permit triage of those patients who could benefit from specific preventive strategies. We followed up the cohort of HD patients carrying TCC in our institution with the aim of determining whether regular microbiological surveillance of endoluminal colonization of these devices might be useful in predicting CRBSI. We also performed pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) to ascertain if particular *S. epidermidis* clones were responsible for ECC and as well as their persistence on the inner catheter surface until the development of CRBSI.

Materials and methods

Patients, setting and data collection of the study population

This study was approved by the ethics committee of our institution and all patients gave informed consent. The experimental guidelines of our institution were followed in the conduct of the clinical research. Between December 2006 and June 2008, we enrolled patients older than 18 years of age with end-stage renal disease who underwent HD with a dual-lumen TCC at Hospital Universitario 12 de Octubre in Madrid and in a dialysis centre affiliated to the hospital. Infection control measures during insertion and care for catheters were in accordance with written in-house guidelines in both units [31]. Cefazolin 1 g was given intravenously at the time of insertion. We included patients that were carrying a TCC at the initiation of the study and who had no previous catheter-related infections, as well as those who underwent insertion of TCC during the study period. Patients were excluded if the catheter remained in place <1 month. In cases in which the catheter was removed, the patients were re-enrolled into the study if a new TCC was inserted. Patients exited the study when their catheters were permanently removed. Nasal carriage of *S. aureus* was regularly investigated and topical mupirocin was prescribed if so affected. Demographic and clinical information were collected prospectively on all HD patients with TCC. All catheter exit sites were revised in each HD session. In addition, all clinical information regarding catheter-related infections were recorded, including CRBSI. Management of intracatheter catheter-related infections was in accordance with published guidelines [32]. All CRBSI episodes were treated according to their aetiology with systemic antibiotics and antibiotic lock therapy during a period of at least 14 days.

Collection of study samples

Diagnosis of endoluminal catheter colonization. After each dialysis, each catheter lumen was filled with 2 mL of heparin (5000 IU/mL) prior to being locked. Colonization of the inner catheter lumen was assessed every 15 days immediately before HD as follows:

- Culture of blood-heparin mixture: the first 5 mL of the catheter fluid containing heparin (~2 mL) and blood (~3 mL) were separately aspirated from the arterial and venous lumens. These two samples were inoculated into aerobic culture bottles which were incubated for 5 days in an automated blood culture system (BactAlert, BioMérieux, Durham, NC). Time to positivity (TTP), defined as the time between the start of incubation and the start of the alert signal (as documented by the monitoring system), was recorded.
- Culture of heparin lock solution: in some instances, a syringe was used to remove ~0.5 mL of the heparin lock solution for culture. In those cases, the remaining fluid containing a mixture of blood and heparin mixture was also cultured. After collection of the catheter samples for culture, the patients were connected to their dialysis lines in the usual manner.

Diagnosis of CRBSI. These samples were taken when the physician responsible for the patient had the suspicion of catheter-related infection or when the catheter was considered colonized (see the 'Definitions' section). Blood cultures from two lumens of the TCC and a peripheral vein were obtained simultaneously. If the catheter was removed due to suspicion of infection, the catheter tip was also cultured.

Definitions

- For CoNS, ECC was defined when culture of two endoluminal samples collected on different days in a 1-month period were both positive for the same species based on phenotypic identification. In these cases, the date of processing of the first sample was considered as the date of colonization. For microorganisms other than CoNS, such as Gram-negative bacteria, *S. aureus* and yeasts, only a single positive culture was required for a patient to be considered colonized.
- CRBSI was defined as isolation of the same organism (identical biotype and susceptibility pattern) from both the TCC and peripheral blood cultures provided that the TTP from the catheter was ≥ 120 min less than that from peripheral blood (i.e. differential TTP ≥ 120 min) [33]. We considered patients to have had more than one episode of CRBSI if the first episode was successfully treated as evidenced by negative blood culture after treatment and there was an interval of >1 month between positive cultures.
- We considered patients to be in the non-CRBSI group if they had no signs or symptoms of catheter-related infection and both their central catheter and peripheral blood cultures were negative.

Microbiological procedures and molecular typing

All samples were submitted to the microbiology laboratory where they were processed according to routine laboratory methods. For culture of heparin lock solution, 50 µL of the solution were inoculated onto Columbia agar with 5% sheep blood and incubated aerobically for 48 h at 37°C. Samples of blood-heparin mixture and blood alone were processed using an automated blood culture system (BactAlert, BioMérieux, Durham, NC) which continuously monitors for microbial growth. The TTP was recorded. All isolates were subsequently identified to the species level and their antimicrobial susceptibility were determined using conventional methods and the Wider System (Soria Melgares, Madrid, Spain).

Molecular characterization of CoNS isolates was performed by PFGE following digestion of DNA extracts with *Sma*I [34]. Migration of DNA fragments was normalized between different gels using a molecular weight standard (Lambda ladder, New England Biolabs, Beverly, MA) that was run in two lanes on each gel. Computer-assisted analysis of PFGE was carried out using BioNumerics software (Applied Maths, Kortrijk, Belgium). A 1.8% tolerance was used for comparisons of DNA patterns.

Statistical analysis

The rate of CRBSI was calculated as a density of incidence and was reported per 1000 catheter-days. CRBSI and non-CRBSI groups were compared using a two-tailed chi-square test or Fisher's exact test for categorical variables and the Mann-Whitney test for continuous variables. We compared the results of endoluminal cultures of CRBSI and non-CRBSI groups in order to analyse the clinical significance of the surveillance samples in predicting CRBSI. We assessed the risk of CRBSI associated with positive culture results in each of the following scenarios: (i) any sample (at least one positive culture of any type of sample), (ii) arterial culture (at least one positive culture of an arterial lumen sample), (iii) venous culture (at least one positive culture of a venous lumen sample), (iv) paired cultures (positive cultures of arterial and venous lumen samples from the same intervention), (v) two consecutive samples (positive culture of two samples taken in different interventions) and (vi) culture of heparin lock solution. We calculated the sensitivity, specificity, positive and negative predictive values (PPV and NPV) and overall efficiency for prognosis of CRBSI for each scenario of positive test results obtained in the month prior to the date of clinical diagnosis. Statistical analyses were performed using the SPSS software package (SPSS) and Epidat 3.0 (Pan American Health Organization).

Results

Study population and characteristics of patients with CRBSI

During the 18-month study period, we enrolled 51 patients who required 64 TCC, of which 51 (79.7%) were

Table 1. Characteristics of HD patients by CRBSI status during the study period

	CRBSI patients (n = 14)	Non-CRBSI patients (n = 37)	P-value	All patients (n = 51)
Age (years) ^a	54.6 ± 17.9	68.0 ± 14.6	0.093	65.71 ± 15.8
Male sex (%)	9 (64.3)	18 (48.6)	0.094	27 (52.9)
Causes of end-stage renal disease (%)				
Diabetic nephropathies	7 (50)	11 (29.7)	0.181	18 (35.3)
Vascular nephropathies	0 (0)	8 (21.6)	–	8 (15.7)
Glomerulonephritis	2 (14.3)	3 (8.1)	0.512	5 (9.8)
Systemic	1 (7.1)	2 (5.4)	0.816	3 (5.9)
Other	2 (14.3)	2 (5.4)	0.297	4 (7.8)
Unknown	2 (14.3)	11 (29.7)	0.263	13 (25.5)
Prevalent TCC (%)	11 (78.6)	25 (67.6)	0.671	36 (70.6)
HD vintage (days) ^a	1946.7 (1949.2)	1183.2 (1442.1)	0.070	1392.8 (1613.5)
Follow-up (days) ^a	339.9 (137.60)	214.7 (120.87)	0.706	249.0 (136.5)
Number of catheters used during the study ^b	19	45	–	64
Catheter site insertion:				
Jugular vein	3	6		9
Subclavian vein	16	38		54
Femoral vein	–	1		1
Number of colonized catheters (%)	14/19 (73.7)	2/45 (4.4)	<0.001	16/64 (25.0)
Time from TCC insertion to ECC (days) ^c	390.9 (388.8)	286.50 (135.1)	0.7195	377.9 (365.38)
Time from TCC insertion to CRBSI (days) ^d	442.8 (378.8)	–	–	–
Deaths during follow-up ^e	0	15 (40.5)	–	15 (29.4)

^aData are expressed as mean ± SD.^bIn CRBSI patients, five catheters were removed (three because of persistent CRBSI and two due to other causes). In non-CRBSI patients, eight catheters were removed due to other causes than infection.^cNo patient died of CRBSI.

pre-existing and 13 (20.3%) were inserted during the course of the study period. Nineteen patients (37.3%) were dialysed at the hospital unit and 32 (62.7%) at the ambulatory unit. Median follow-up was 245.0 days (interquartile range, 110.0–314.5). During the period of the study, 15 patients (29.4%) died, none due to catheter-related infection. A summary of patient demographics and medical histories is shown in Table 1.

During the study period, 14 patients (27.4%) carrying 14 TCC had 21 CRBSI episodes (two patients had four episodes with one TCC, one had two episodes with one TCC and the rest had only one episode with one TCC). The incidence of CRBSI was 1.65 episodes per 1000 catheter-days. *S. epidermidis* was involved in 16 (76.2%) of cases. In 14 (66.7%) cases, *S. epidermidis* alone was isolated, while two cases (9.5%) involved mixed infections, one with *Enterococcus faecalis* and the other with *Stenotrophomonas maltophilia*. Of the remaining five cases, four were single infections involving *S. maltophilia* (two cases), *E. faecalis* and *Corynebacterium* spp. The remaining case of CRBSI was due to co-infection with *E. faecalis* and *Escherichia coli*. The demographic and clinical characteristics of the patients who presented with clinical episodes of CRBSI were similar to those of patients in the non-CRBSI group with regard to age, sex, centre of HD, cause of renal failure, catheter insertion site, days included in the study and days of HD. However, ECC was more frequent in CRBSIs than in the non-CRBSI group (73.7 vs 4.4%, $P < 0.001$) (Table 1). In three patients with a single CRBSI episode (two with *S. epidermidis* and one with *E. faecalis* and *E. coli*), catheters were removed due to persistent bacteraemia after completing the treatment. Cultures of the tip showed that the microorganisms found

were the same as those isolates from blood cultures and endoluminal samples.

Dynamics of endoluminal catheter colonization in relation to CRBSI

A total of 1521 endoluminal samples were obtained from the 51 patients. Of these, 1351 were blood-heparin mixtures: 654 from the arterial lumen, 654 from the venous lumen and 43 for which the lumen source was not recorded. The remaining 170 samples were of heparin lock solution and comprised 144 from the venous lumen and 26 from the arterial lumen. CoNS were the most common microbial isolates and were recovered from 177 samples: 107 from 10 patients with 14 *S. epidermidis* CRBSIs, 54 from 36 patients of the non-CRBSI group and 16 from one patient who was removed from the study because of catheter dysfunction. Furthermore, in seven episodes of mixed and non-CoNS CRBSIs occurring in four patients, 34 endoluminal samples showed isolates other than CoNS.

All 21 CRBSI episodes were preceded by catheter colonization. The microorganism found in the catheter lock was the same as the one causing CRBSI. Overall, the median time between ECC and diagnosis of CRBSI was 28.0 days (interquartile range, 5.0–45.0). The median time from ECC to diagnosis of *S. epidermidis*-related CRBSIs (14 episodes) was 31.5 days (interquartile range, 27.0–79.0). For the group including mixed and non-CoNS CRBSIs (seven episodes), the median time was 2.0 days (interquartile range, 2.0–23.0). The difference between both groups was statistically significant ($P = 0.032$). Median TTP of endoluminal cultures was 14.5 h (interquartile range, 11.0–20.8), 9.6 h (interquartile range, 6.0–12.6) and

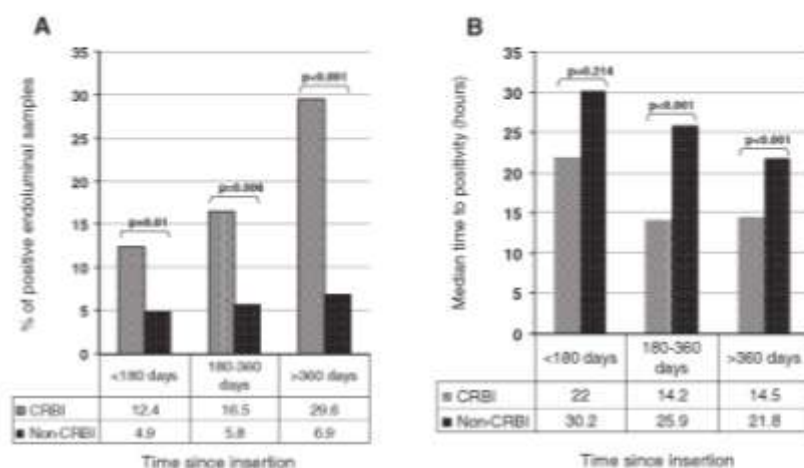


Fig. 1. Dynamics of ECC in HD patients. (A) Proportion of positive endoluminal samples in CRBSI and non-CRBSI patients. (B) Median TTP in CRBSI and non-CRBSI patients.

26.1 h (interquartile range, 20.5–37.3) in *S. epidermidis* CRBSI, mixed and non-CoNS CRBSI and non-CRBSI, respectively. The observed differences in TTP among the three groups were statistically significant ($P < 0.05$).

To investigate the dynamics of ECC, all endoluminal samples taken prior to CRBSI were analysed. Overall, the proportion of positive endoluminal samples in case of *S. epidermidis* CRBSI was 23.1% (107 out of 463), while for the non-CRBSI group, it was 5.9% (54 out of 920) ($P < 0.001$). We also analysed the proportion of positive endoluminal samples and TTP starting at the time of catheter insertion. This was accomplished by grouping the data into three periods: <180 days since catheter insertion, between 180 and 360 days and >360 days. The proportion of positive endoluminal samples was significantly higher in the *S. epidermidis* CRBSIs than in the non-CRBSI group for the three periods analysed (Figure 1, panel A). Furthermore, the proportion of positive endoluminal samples increased significantly from the second (16.5%) to the third period (29.6%) in the *S. epidermidis* CRBSIs ($P = 0.009$) but not in the non-CRBSI group ($P > 0.05$). The median TTP of endoluminal cultures was also lower in the *S. epidermidis* CRBSIs than in the non-CRBSI group for the second and third periods ($P < 0.001$) (Figure 1, panel B).

Dynamics of ECC according to *S. epidermidis* genotype

For microorganisms different from CoNS, we considered that having identical biochemical and similar antibiogram was enough to consider the isolates obtained from catheter colonization and from CRBSI episodes as an identical microorganism, without any need for molecular studies. For *S. epidermidis* CRBSIs, we considered the possibility of clonal diversity. Therefore, we analysed the isolates by PFGE in order to determine if the episodes of CRBSI were due to a single *S. epidermidis* clone which might have been

the cause of persistent colonization of the internal surface of the catheter hub. A total of 91 available isolates of *S. epidermidis* from 12 patients were tested. These comprised 45 blood isolates (obtained from at least one lumen of a TCC and a peripheral vein) at the time of CRBSI and 46 endoluminal isolates obtained during the surveillance period prior to diagnosis of CRBSI. In each patient, all isolates obtained from the central and peripheral veins exhibited identical biotype and antimicrobial susceptibility patterns. The results of the PFGE analysis also confirmed that, in each patient, the genotype observed in blood and endoluminal cultures was the same (Figure 2, panel A). To investigate whether there was a clonal spread of *S. epidermidis* among HD patients, we also compared the PFGE patterns between patients. The isolates from each patient were shown to belong to different clonal types (Figure 2, panel B).

Use of endoluminal samples to predict CRBSI

In order to assess the validity of identifying ECC in the prediction of subsequent CRBSI, we analysed 14 patients who had a total of 21 episodes of CRBSI and 29 HD patients who showed no signs of CRBSI as demonstrated by negative TCC and peripheral blood cultures. For this analysis, we excluded eight patients only because TCC and peripheral blood cultures were not performed. Among the 14 patients with CRBSI, the median time from colonization to the development of CRBSI was 1 month. Consequently, for each patient, we analysed the results of the different cultures that were performed in the month prior to developing CRBSI. When we considered all endoluminal samples during this period as a single test, the validity values to predict CRBSI were: sensitivity, 95.2%; specificity, 86.2%; PPV, 83.3%; and NPV, 96.2%. The culture of blood-heparin mixture from arterial or venous lumens yielded similar va-

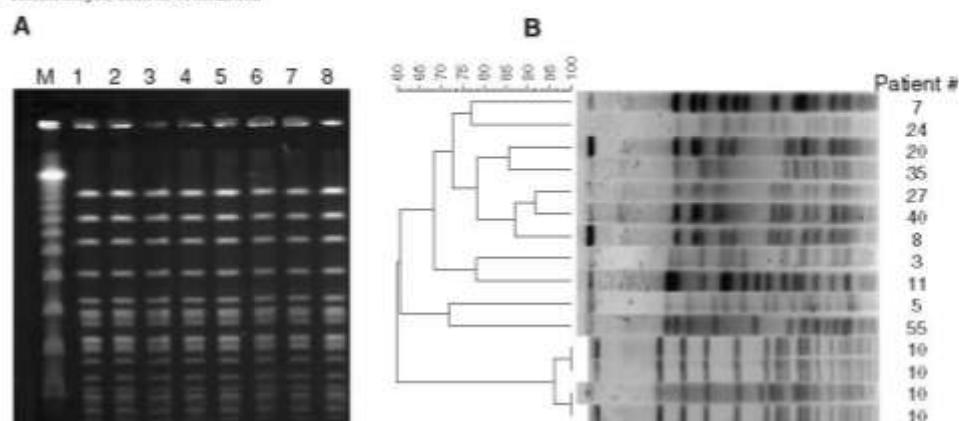


Fig. 2. Images of PFGE patterns of *S. epidermidis* from HD patients. (A) Image of PFGE patterns of *S. epidermidis* isolates obtained from a single representative patient during the study period. M, lambda molecular marker; 1–5, endoluminal samples; 6–8, blood cultures drawn by the arterial venous branches of the catheter and from a peripheral vein sample. Date of isolation (month/day/year) of samples: 1 (01/16/2007), 2 (02/27/2007), 3 (03/15/2007), 4 (03/27/2007), 5 (04/03/2007), 6–8 (04/03/2007). This patient presented persistent ECC by the same clone of *S. epidermidis* and finally he developed CRBSI. (B) Dendrogram of the PFGE patterns of *S. epidermidis* isolates from blood culture in all episodes of CRBSI during the study period (one isolate per clinical episode). The dendrogram shows the high clonal diversity of the *S. epidermidis* isolates causing CRBSI, which confirms the lack of clonal dissemination of *S. epidermidis* in both HD units.

lues for sensitivity (84.2 and 90.0%, respectively) and specificity (96.3 and 96.3%, respectively) (Table 2). Culture of heparin lock solution showed the highest sensitivity (100%) and specificity (100%).

A similar analysis was performed on the same group of patients to determine the ability to predict CoNS CRBSI (Table 3). For arterial endoluminal cultures, sensitivity and specificity were 100 and 96.3%, respectively, while for venous endoluminal cultures, these values were 92.3 and 96.3%, respectively. For heparin lock solution cultures, both sensitivity and specificity were 100%. We used endoluminal cultures with TTP ≤ 14 h to predict CoNS CRBSI. Sensitivity, specificity, PPV and NPV were 52.1% (95% CI, 38.3–65.5), 97.7% (95% CI, 88.2–99.6), 96.1% (95% CI, 81.1–99.3) and 65.1% (95% CI, 53.1–75.5), respectively.

Discussion

This study highlights the importance of the dynamics of catheter colonization in the prediction of CRBSI. During the period of this study, we estimated a CRBSI rate of 1.65 episodes per 1000 catheter-days, which is lower than

the rate that has been reported elsewhere [8–18]. We observed that all HD patients who developed CRBSI had presented previously with ECC by the strain of microorganism that was ultimately responsible for their bloodstream infection. The aetiology of CRBSI caused by *S. epidermidis* involved colonization of the catheter with a single clonal population of the organism and subsequent development of CRBSI after a median interval of ~ 1 month. At the same time, we also observed that, in CRBSIs caused by microorganisms different from CoNS, the interval time between catheter colonization and CRBSI was significantly lower (median time, 2.0 days; interquartile range, 2.0–23.0). Based on endoluminal cultures, the interval between initial colonization and development of CRBSI may be related to the type of microorganism and to the time required to achieve a critical threshold of bacterial load. It is important to highlight that there was no ECC and CRBSI caused by *S. aureus* during our study. In all probability, the growth of *S. aureus* is too fast to be detected by regular screening cultures before the occurrence of CRBSI [35].

Although different techniques have been used to investigate catheter colonization [25,30,35–38], we wanted to use a readily accessible method to predict the risk of

Table 2. Utility of ECC culture to predict CRBSI

	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV	Efficiency
Any sample	95.2 (77.3–99.2)	86.2 (89.4–94.5)	83.3 (64.2–93.3)	96.2 (81.1–99.3)	90.0 (78.6–95.6)
Arterial lumen culture	84.2 (62.4–94.5)	96.3 (81.7–99.3)	94.1 (73.0–99.0)	89.7 (73.6–96.4)	91.30 (79.7–96.6)
Venous lumen culture	90.0 (70.0–97.2)	96.3 (81.7–99.3)	94.7 (75.4–99.1)	92.8 (77.4–98.0)	93.6 (82.8–97.8)
Paired arterial–venous lumens cultures	89.0 (58.4–92.0)	100 (88.0–100.0)	100 (80.6–100.0)	87.5 (71.9–95.0)	91.7 (80.4–96.2)
Two consecutive cultures	85.0 (64–94.8)	100.0 (86.7–100.0)	100.0 (81.6–100.0)	89.3 (72.8–96.3)	93.33 (82.1–97.7)
Heparin lock solution cultures	100.0 (75.8–100.0)	100.0 (84.6–100.0)	100.0 (75.8–100.0)	100.0 (64.6–100.0)	100.0 (83.2–100)

PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value; PLR. Values are percentages with 95% confidence intervals.

Table 3. Utility of ECC culture to predict CRBSI due to *S. epidermidis*

	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV	Efficiency
Any sample	100.0 (78.5–100.0)	85.2 (69.4–94.5)	77.8 (54.8–91.0)	100.0 (86.7–100.0)	90.7 (78.4–96.3)
Arterial lumen culture	100.0 (75.8–100.0)	96.3 (81.7–99.3)	92.3 (66.7–98.6)	100.0 (87.1–100.0)	97.4 (86.8–99.5)
Venous lumen culture	92.3 (66.7–98.6)	96.3 (81.7–99.3)	92.3 (66.7–98.6)	96.3 (81.7–91.3)	95.0 (83.5–98.6)
Paired arterial-venous cultures	92.3 (66.7–98.6)	100.0 (88.0–100.0)	100.0 (75.8–100.0)	96.5 (82.8–99.4)	97.6 (87.4–99.6)
Two consecutive cultures	100.0 (77.2–100.0)	100.0 (86.7–100.0)	100.0 (77.2–100.0)	100.0 (86.7–100.0)	100.0 (90.8–100.0)
Heparin lock solution culture	100.0 (64.6–100.0)	100.0 (64.6–100.0)	100.0 (64.6–100.0)	100.0 (64.6–100.0)	100.0 (78.5–100.0)

PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value; PLR. Values are percentages with 95% confidence intervals.

CRBSI with minimum risk to the patient. For that reason, we chose to use the first ~5 mL of catheter fluid that is typically discarded in the process of connecting the patient to the HD machine and which contains a mixture of heparin solution (~2 mL) and blood (~3 mL). In cases of ECC, the blood-heparin aspirate is expected to contain viable bacteria in suspension that have been sloughed off the biofilm surface coating the inner lining of the catheter. These samples can readily be inoculated in standard aerobic blood culture bottles for automated processing and detection of bacterial growth. As has been reported previously, we hypothesized that the TTP of the culture would correlate with the initial bacterial load and could be useful in discriminating clinically significant infections [33].

This study shows that positive ECC may predict the risk of developing TCC-related bacteraemia. Over the study period, the proportion of positive endoluminal samples increased, and this increase was significantly higher in the patients that develop CRBSI (Figure 1A). Furthermore, positive endoluminal samples had a lower TTP in the *S. epidermidis* CRBSI group (14.5 h) than in the non-CRBSI group (26.1 h), suggesting that the inoculum in the catheter hub was much higher. In this study, CoNS endoluminal cultures with a low TTP was predictive of imminent CRBSI, offering potential in the future for prophylactic intervention based on monitoring of endoluminal cultures. Longer TTP is perhaps indicative of early phase ECC without concurrent or imminent bacteraemia.

Our results showed that cultures of blood-heparin mixture from the arterial or venous lumens or of heparin lock solution had a high sensitivity for the prediction of CRBSI. In particular, a TTP of ≤14 h had a very high PPV (96.1%) for CoNS CRBSI. These results may be very useful for the clinical management of HD patients. A possible strategy to apply to this group of patients is to monitor ECC by culture of blood-heparin TCC samples on a fortnightly basis. Asymptomatic patients with negative results would be candidates for continued surveillance culture, while those with positive results would be candidates for confirmation of colonization by a repeat culture and, upon confirmation, for preventive or therapeutic management. Knowledge of the antimicrobial resistance pattern of the colonizing agent would also enable specific intervention strategies to be tailored for individual patients. Thus, patients with ECC without CRBSI would be candidates to receive antibiotic lock therapy, and for those with CRBSI, antibiotic lock therapy should be used in conjunction with systemic antimicrobial therapy according to the recommendations

for specific microorganisms [39]. This would enable early and targeted antimicrobial therapy, increasing the catheter salvage rate and reducing the development of bacterial drug resistance. On the other hand, we have estimated that the cost of the regular screening would not be extremely high because most clinical laboratories have an automated blood culture system. The main cost would be two culture bottles per intervention. Given that CRBSI is associated with a high morbidity, mortality and cost in HD patients, we think that the regular screening of ECC by culture of blood-heparin TCC samples might be cost-effective in reducing CRBSIs.

It is important to keep in mind that there are unique aspects of managing patients who are receiving HD through catheters and for whom catheter-related infection is suspected or proven [39]. In a position statement published recently by the European Renal Best Practice, the Infectious Diseases Society of America guidelines have been revised with the intention of focusing on the items which are relevant for nephrologists and amending them to HD conditions and/or for the European situation with regard to tunnelled catheters [40,41]. Thus, an important aspect related to the diagnosis of CRBSI is the simultaneous sampling from peripheral vein and from catheter. Although in our study we recommend to obtain peripheral blood samples from vessels that were not intended for future use in creating a dialysis fistula, in many cases, it may not be possible to puncture a peripheral vein due to unavailability or because it is deemed desirable to preserve veins for future access creation. According to an ERBP recommendation, 'if a hemodialysis catheter is not removed, blood cultures obtained during dialysis through the dialysis circuit linked to the catheter are a more realistic and practical method to isolate an organism related to catheter-associated infection than the dual-site approach including also a peripheral vein sample' [40,41].

Although the data presented here are compelling, our study has some limitations. Firstly, the number of HD patients included in the study is small and many were enrolled after insertion of their central venous catheter. Other similar studies have also showed difficulty in recruiting a high number of patients [27,32]. Secondly, the original design of the study was meant to evaluate the validity of culture of heparin lock solution to detect ECC. However, due to technical and strategic difficulties in obtaining pure heparin lock solution, we were only able to include a small number of this type of samples. Although culture of heparin lock solution showed a high sensitivity

and specificity, the number of these samples was very low. Thirdly, it is also important to mention that the validation study was performed in a subsection of the same population as the initial study. This type of validation is of lesser value than one performed in another population. Therefore, we believe that we have to be cautious in interpreting these results. Further research is necessary to clarify the validity of this type of samples.

Our findings indicate that TCC surveillance cultures, based on easily accessible samples, could be used to predict the risk of developing CRBSI. These surveillance cultures could, therefore, be used to triage individual HD patients who might benefit from specific intervention measures and help to avoid widespread administration of prophylactic antimicrobial therapy.

Acknowledgements. The authors wish to thank the healthcare workers from the dialysis units. We thank Tobin Halperin, Jesus Ifigo and Juan Francisco Pascual for reviewing the manuscript. This study was supported by the Spanish Network for Research in Infectious Diseases RD06/0008/0011 and PI07/90239 from Instituto de Salud Carlos III.

Conflict of interest statement. None declared.

References

- Pisori RL, Young EW, Dykstra DM *et al.* Vascular access use in Europe and in the United States: results from the DOPPS. *Kidney Int* 2002; 61: 305–316.
- Reddan D, Klassen P, Frankenfield DL *et al.* National profile of practice patterns for hemodialysis vascular access in the United States. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 2117–2124.
- Schwab SJ, Beathard GA. The hemodialysis catheter conundrum: hate living with them, but can't live without them. *Kidney Int* 1999; 56: 1–17.
- Tokars JL, Miller ER, Alter MJ *et al.* National surveillance of dialysis-associated diseases in the United States. *Semin Dial* 2002; 15: 162–171.
- Churchill DN, Taylor DW, Cook RJ *et al.* Canadian hemodialysis morbidity study. *Am J Kidney Dis* 1992; 19: 214–234.
- Johrson WI, Kurtz SR, Mitchell JC III *et al.* Results of treatment of hemodialysis center patients. *Mayo Clin Proc* 1984; 59: 669–671.
- US Renal Data System. USRDS 2001 Annual Data Report: Atlas of End-Stage Renal Disease in the United States. Bethesda, MD: National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 2001.
- Beathard GA. Management of bacteremia associated with tunneled-cuffed hemodialysis catheters. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 1045.
- Dogra GK, Herson H, Hutchison B *et al.* Prevention of tunneled hemodialysis catheter-related infections using catheter-locked filling with gentamicin and citrate: a randomized controlled study. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 2133–2139.
- Krishnasami Z, Carlton D, Bimbo L *et al.* Management of hemodialysis catheter-related bacteremia with an adjunctive antibiotic lock solution. *Kidney Int* 2002; 61: 1136–1142.
- Lok CE, Stanley KE, Hux JE *et al.* Hemodialysis infection prevention with polysporin ointment. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 169–179.
- Saad TF. Bacteremia associated with tunneled, cuffed hemodialysis catheters. *Am J Kidney Dis* 1999; 34: 1114–1124.
- Tuniover B, Carlton D, Sadekni S *et al.* Bacteremia associated with tunneled dialysis catheters: comparison of two treatment strategies. *Kidney Int* 2000; 57: 2151–2155.
- Stevenson KB, Hazrah EL, Lowder CA *et al.* Epidemiology of hemodialysis vascular access infections from longitudinal infection surveillance data: predicting the impact of NKF-DOQI clinical practice guidelines for vascular access. *Am J Kidney Dis* 2002; 39: 549–555.
- Poole CV, Carlton D, Bimbo L *et al.* Treatment of catheter-related bacteremia with an antibiotic lock protocol: effect of bacterial pathogen. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 1237–1244.
- Gruziniski L, Quirán P, Kwok S *et al.* Sodium citrate 4% locking solution for central venous dialysis catheters—an effective, more cost-efficient alternative to heparin. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 471–476.
- Cheesbrough JS, Finch RG, Burden RP. A prospective study of the mechanisms of infection associated with hemodialysis catheters. *J Infect Dis* 1986; 154: 579–589.
- Swartz RD, Messana JM, Boyer CJ *et al.* Successful use of cuffed central venous hemodialysis catheters inserted percutaneously. *J Am Soc Nephrol* 1994; 4: 1719–1725.
- Almirall J, Gonzalez J, Rello J *et al.* Infections of hemodialysis catheters: incidence and mechanisms. *Am J Nephrol* 1989; 9: 454–459.
- Jacobsson G, Dasthi S, Wahlberg T *et al.* The epidemiology of and risk factors for invasive *Staphylococcus aureus* infections in western Sweden. *Scand J Infect Dis* 2007; 39: 6–13.
- von Eiff C, Peters G, Heilmann C. Pathogenesis of infections due to coagulase-negative staphylococci. *Lancet Infect Dis* 2002; 2: 677–685.
- Raad I, Costerton W, Sabharwal U *et al.* Ultrastructural analysis of indwelling vascular catheters: a quantitative relationship between luminal colonization and duration of placement. *J Infect Dis* 1993; 168: 400–407.
- Sitges-Serra A, Lilaes I, Pérez JL *et al.* A randomized trial on the effect of tubing changes on hub contamination and catheter sepsis during parenteral nutrition. *J Parenter Enteral Nutr* 1985; 9: 322–325.
- Lilaes I, Sitges-Serra A, Garau J *et al.* Pathogenesis of catheter sepsis: a prospective study with quantitative and semiquantitative cultures of catheter hub and segments. *J Clin Microbiol* 1985; 21: 357–360.
- Dittmer ID, Sharp D, McNulty CAM *et al.* A prospective study of central venous hemodialysis catheters colonization and peripheral bacteremia. *Clin Nephrol* 1999; 51: 34–39.
- Salzman MB, Rubin LG. Relevance of the catheter hub as a portal for microorganisms causing catheter-related bloodstream infections. *Nutrition* 1997; 13: 15S–17S.
- Marrie TJ, Costerton JW. Scanning and transmission electron microscopy of in situ bacterial colonization of intravenous and intraarterial catheters. *J Clin Microbiol* 1984; 19: 687–693.
- Rosenbaum D, MacRae JM, Djurdjev O *et al.* Surveillance cultures of tunneled cuffed catheter exit sites in chronic hemodialysis patients are of no benefit. *Hemodial Int* 2006; 10: 365–370.
- Nielsen I, Kolmos HJ, Rindahl VT. Poor value of surveillance cultures for prediction of septicemia caused by coagulase-negative staphylococci in patients undergoing haemodialysis with central venous catheters. *Scand J Infect Dis* 1998; 30: 569–572.
- Fux CA, Uehlinger D, Bodmer T *et al.* Dynamics of hemodialysis catheter colonization by coagulase-negative staphylococci. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005; 26: 567–574.
- O'Grady NP, Alexander M, Dellinger EP *et al.* Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. *Clin Infect Dis* 2002; 35: 1281–1307.
- Mermel LA, Farr BM, Sherertz RJ *et al.* Guidelines for the management of intravascular catheter-related infections. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 1249–1272.
- Blot F, Schmitt E, Nitenberg G *et al.* Earlier positivity of central-venous- versus peripheral-blood cultures is highly predictive of catheter-related sepsis. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 105–109.
- Chaves F, García-Martínez I, De Miguel S *et al.* Epidemiology and clonality of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* causing bacteremia in a tertiary hospital in Spain. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005; 26: 150–156.
- Del Pozo JL, Aguinaga A, García-Fernández N *et al.* Intra-catheter leukocyte culture to monitor hemodialysis catheter colonization. A prospective study to prevent catheter-related bloodstream infections. *Int J Artif Organs* 2008; 31: 820–826.

36. Guist HE, Helmig-Schurter AV, van 't Noordende JM. The relevance of cultures of catheter-drawn blood and heparin-lock fluid to diagnose infection in hematologic patients. *Bon Hematol* 1992; 64: 28–34.
37. Koch M, Coyne D, Hoppe-Bauer I *et al.* Bacterial colonization of chronic hemodialysis catheters: evaluation with endoluminal brushes and heparin aspirate. *J Vasc Access* 2002; 3: 38–42.
38. Bouza E, Muñoz P, Buñillo A *et al.* The challenge of anticipating catheter tip colonization in major heart surgery patients in the intensive care unit: are surface cultures useful? *Crit Care Med* 2005; 33: 1953–1960.
39. Mermel LA, Alon M, Bouza E *et al.* Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2009; 49: 1–45.
40. Vanholder R, Canaud B, Fluck R *et al.* Diagnosis, prevention and treatment of haemodialysis catheter-related bloodstream infections (CRSBI): a position statement of European Renal Best Practice (ERBP). *NTD Plus* 2010; 3: 234–246.
41. Vanholder R, Canaud B, Fluck R *et al.* Catheter-related blood stream infections (CRBSI): a European view. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25: 1753–1756.

Received for publication: 23.12.09; Accepted in revised form: 13.7.10



Nosocomial spread of linezolid-resistant *Staphylococcus haemolyticus* infections in an intensive care unit

Almudena Rodríguez-Aranda, Maria Daskalaki, Julia Villar, Francisca Sanz, Joaquín R. Otero, Fernando Chaves*

Servicio de Microbiología Clínica, Hospital Universitario 12 de Octubre, 28041 Madrid, Spain

Received 29 August 2008; accepted 15 December 2008

Abstract

This report documents the nosocomial spread for an 18-month period of a single clone of linezolid- and teicoplanin-resistant *Staphylococcus haemolyticus* associated primarily with catheter-related bacteremia in intensive care unit patients. All linezolid-resistant isolates had the same G2576T mutation in at least 1 copy of the 23S rRNA gene.

© 2009 Elsevier Inc. All rights reserved.

Keywords: *Staphylococcus haemolyticus*; Multidrug resistance; Linezolid; Teicoplanin; Antimicrobial resistance; Nosocomial infection; Bacteremia

Coagulase-negative *Staphylococcus* spp. (CoNSs) are common causes of hospital mortality and morbidity worldwide. CoNSs frequently infect immunocompromised patients who have prostheses and other invasive devices in place. Among clinically significant isolates of CoNSs, *Staphylococcus haemolyticus* is ranked 2nd in importance after *Staphylococcus epidermidis* (Bannerman, 2003) and has a tendency to develop resistance to multiple antibiotics (Froggatt et al., 1989). Teicoplanin-resistant *S. haemolyticus* was first reported in the United States and UK in 1986 (Del Bene et al., 1986; Wilson et al., 1986). In both reports, the strains were also resistant to methicillin yet fully susceptible to vancomycin. The mechanisms by which CoNSs develop glycopeptide resistance are still poorly understood. Glycopeptide resistance in *S. haemolyticus* is multifactorial in nature (Biswas et al., 2000), and both the presence of a novel cytoplasmic peptidoglycan precursor and altered peptidoglycan cross-bridges are thought to contribute (Billot-Klein et al., 1996). Linezolid, the 1st of the oxazolidinones to be approved for clinical use, is an important alternative for the treatment of multidrug-resistant CoNS infections (Shimabarger, 1999). Linezolid resistance

has been observed in some clinical isolates of enterococci and staphylococci (Prystowsky et al., 2001; Zhu et al., 2007).

After isolating linezolid- and teicoplanin-resistant *S. haemolyticus* (LTR-SH) from patients in the intensive care unit (ICU), we undertook a retrospective study in our 1300-bed tertiary care institution to investigate the epidemiology and clonality of these infections as well as the molecular mechanism of resistance to linezolid.

Clinical records of all patients from whom LTR-SH had been isolated in the last 3 years were reviewed. Bacterial identification and antimicrobial susceptibility testing were performed with wider panels (Soria-Melguizo, Madrid, Spain), based on the broth microdilution method, and were interpreted using the criteria of the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2006). MIC for linezolid, teicoplanin, vancomycin, tigecycline, and daptomycin were performed by the Etest method (AB Biodisk, Solna, Sweden). To confirm the identification of *S. haemolyticus*, we used broad-spectrum primers for sequencing the 5' ends of both strands of the 16S rRNA gene (Becker et al., 2004). To investigate the mechanism of resistance to linezolid, we amplified a 420-bp region of domain V of the 23S rRNA genes and digested the products with *NheI* restriction enzyme to detect the G2576T mutation (Hong et al., 2007). The DNA fragments were separated on a 3% agarose gel and stained with ethidium bromide. Genetic relatedness of LTR-SH isolates was analyzed by pulsed-field gel

* Corresponding author. Tel.: +34-913908239; fax: +34-915652765.
E-mail address: fchaves.hdc@salud.madrid.org (F. Chaves).

Table 1
Demographic, clinical and microbiologic characteristics of patients with LTB-SH infections

Patient	Age	Sex	Date of admission (day/month/year)	Underlying condition(s)	Department of isolation	Date of isolation	Previous surgery	Antibiotic exposure	Source of isolation	Antibiotic resistant pattern	MIC (mg/L)			
											VAN	TEC	LZO	DAP
1	50	F	16/08/2005	Intestinal tumor	ICU	02/11/2005	Yes	Unknown	Surgical wound	MET, GEN, ERY, 3 CLI, CP, SXT	3	128	64	0.5
2	46	F	07/09/2005	Pneumonia	ICU	24/10/2005	Yes	BAP, LZD, AMK	Blood, catheter	RF, TEC, LZD MET, GEN, ERY, 3 CLI, CP, SXT	3	24	64	0.25
3	56	M	23/09/2005	Liver tumor	ICU	31/10/2005	Yes	BAP, LZD, AMK	Blood	RF, TEC, LZD MET, GEN, ERY, 3 CLI, CP, SXT	3	32	64	0.25
4	74	M	25/10/2005	Pneumonia	ICU	04/11/2005	Yes	BAP, LZD, AMK	Blood	RF, TEC, LZD MET, GEN, ERY, 3 CLI, CP, SXT	3	48	64	0.38
5	26	M	29/10/2005	Perforated appendicitis	Reanimation unit	07/11/2005	Yes	LZD, AMK, AMC, MTZ, CAZ, TZP	Blood	RF, TEC, LZD MET, GEN, ERY, 3 CLI, CP, SXT	3	24	48	0.38
6	75	F	19/12/2005	Vertebral fracture, sepsis	ICU	02/01/2006	Yes	LZD, MEM, VAN, MTZ	Surgical wound	RF, TEC, LZD MET, GEN, ERY, 3 CLI, CP, SXT	3	24	48	0.25
7	65	M	31/01/2006	Liver transplant	ICU	21/02/2006	Yes	TZP, CAZ, CP	Respiratory specimen	RF, TEC, LZD MET, GEN, ERY, 3 CLI, CP, SXT	3	48	48	0.5
8	56	M	25/05/2006	Liver transplant	ICU	06/06/2006	Yes	LZD, AMK, TZP, CP, MEM	Blood, catheter	RF, TEC, LZD MET, GEN, ERY, 3 CLI, CP, SXT	3	96	32	0.38
9	52	M	20/06/2006	Alcohol cirrhosis	ICU	05/07/2006	No	AMC	Blood	RF, TEC, LZD MET, GEN, ERY, 3 CLI, CP, SXT	3	64	32	0.25
10	57	M	16/06/2006	Gastric leiomyosarcoma	Reanimation unit	13/07/2006	Yes	AMC, CLR, MEM, LZD, CP	Blood, catheter	RF, TEC, LZD MET, GEN, ERY, 3 CLI, CP, SXT	3	64	64	0.38
11	60	M	03/07/2006	Gastric tumor	ICU	21/08/2006	No	LZD, AMK, BAP	Pleural fluid	RF, TEC, LZD MET, GEN, ERY, 3 CLI, CP, SXT	3	64	128	0.19
12	54	F	03/07/2006	Knee prosthesis, sepsis	ICU	27/08/2006	No	LZD, MEM	Blood, catheter	RF, TEC, LZD MET, GEN, ERY, 3 CLI, CP, SXT	3	96	128	0.25
13	55	F	11/12/2006	Pneumonia	ICU	12/12/2006	No	LZD, UNX	Blood	RF, TEC, LZD MET, GEN, ERY, 3 CLI, CP, SXT	3	96	96	0.25
14	46	M	07/11/2006	Pneumonia	ICU	18/01/2007	Yes	LZD, TEC, BAP, CP	Blood, catheter	RF, TEC, LZD MET, GEN, ERY, 3 CLI, CP, SXT	3	96	96	0.25
15	57	M	04/02/2007	Liver transplant	ICU	08/03/2007	No	BAP	Blood	RF, TEC, LZD MET, GEN, ERY, 3 CLI, CP, SXT	3	64	96	0.25

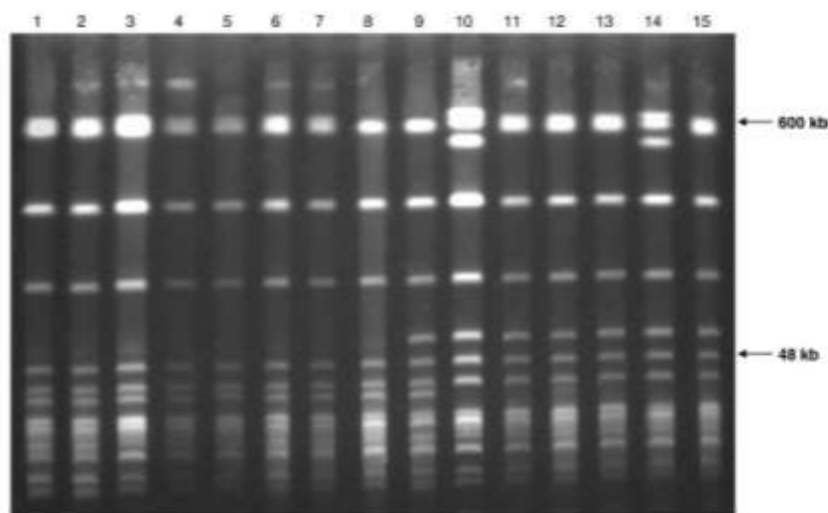


Fig. 1. Pulse-field gel electrophoresis of LTR-SH isolates from 15 ICU patients for an 18-month period. Lanes 1 to 15, isolates from patients 1 through 15.

electrophoresis (PFGE) after digestion of DNA extracts with *Sma*I. PFGE types were defined on the basis of DNA banding patterns in accordance with previously published criteria (Tenover et al., 1995).

Between 2005 and 2007, 22 clinical isolates of LTR-SH were recovered from 15 patients (Table 1). The mean age of the patients was 56 years (SD, 11.75 years), and 10 (66.7%) of 15 patients were male. The mean time between admission and isolation of LTR-SH was 29.9 days (SD, 22.9 days). Thirteen of the patients (86.7%) were admitted to the ICU. All isolates were associated with clinical infections, and 11/15 (73.3%) were the cause of catheter-related bacteremia. Fourteen patients (93.3%) had received previous antimicrobial therapy with multiple antibiotics, including linezolid in 11 cases (73.3%) and teicoplanin in 1 case (6.7%). The mean duration of previous exposure to linezolid before LTR-SH infection was 9.3 days (SD, 12.2 days). None of the patients died of causes directly related to their LTR-SH infections. All isolates were resistant to methicillin, erythromycin, clindamycin, levofloxacin, rifampicin, trimethoprim-sulfamethoxazole, teicoplanin (range, 24–128 mg/L), and linezolid (range, 32–128 mg/L) and showed susceptibility to vancomycin, tigecycline, and daptomycin (Table 1). The clonality of these clinical isolates was studied by PFGE analysis. The results indicated that all isolates exhibited genetic relatedness and belonged to a single clonal group (Fig. 1). This clone persisted for at least 18 months in our hospital, causing infections mainly in ICU patients.

We investigated the mechanism of resistance to linezolid by polymerase chain reaction (PCR) amplification and restriction endonuclease digestion of a 420-bp fragment of the 23S rRNA gene, of which there are 5 copies in *S. haemolyticus* (Bikandi et al., 2004). Cleavage of the amplicon with *Nhe*I and generation of fragments of 322 and 98 bp was considered indicative of the presence of the G2576T point mutation that has been associated with linezolid resistance. All linezolid-resistant isolates studied had the same 23S rRNA mutation in domain V, but incomplete digestion of the PCR products suggests that not all copies of 23S rRNA gene carried the mutation (Fig. 2). On the basis of visual observation of ethidium bromide-stained agarose gels and correlation with MIC values, we postulate that isolates with high levels of resistance to linezolid have more copies of the mutated gene. A similar gene dosage effect has been described in enterococci (Marshall et al., 2002) and staphylococci (Wilson et al., 2003).

This report documents the nosocomial spread for an 18-month period of a single clone of multidrug-resistant *S. haemolyticus*, associated primarily with catheter-related bacteremia in ICU patients. Such clonal transmission has important implications for the clinical management of patients because glycopeptide antibiotics as well as linezolid are important for treatment of severe CoNS infections. Different studies suggest that increased use of linezolid is associated with the emergence of resistance (Kelly et al., 2008; Potoski et al., 2006). This resistance appears to be very uncommon, and the increase in resistance is mainly due to

Notes to Table 1:

AMK = amikacin; AMC = amoxicillin-clavulanic acid; CAZ = ceftazidime; CIP = ciprofloxacin; CLR = clarithromycin; CLI = clindamycin; DAP = daptomycin; ERY = erythromycin; GEN = gentamicin; IMP = imipenem; LZD = linezolid; LVX = levofloxacin; MEM = meropenem; MET = methicillin; MTZ = metronidazole; RIF = rifampicin; TZP = piperacillin-tazobactam; TEC = teicoplanin; TIG = tigecycline; SXT = trimethoprim-sulfamethoxazole; VAN = vancomycin.

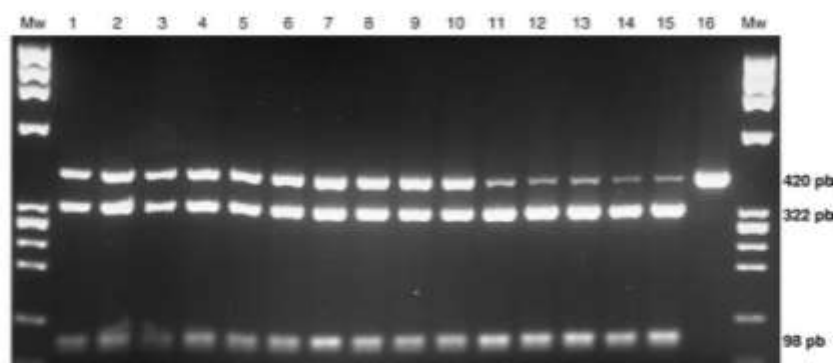


Fig. 2. Image of ethidium bromide-stained agarose electrophoresis gel of the 420-bp 23S rRNA *S. haemolyticus* PCR product after digestion with *NheI*. Lanes 1 to 15, isolates from patients 1 through 15; lane 16, a linezolid-susceptible isolate. Mw = molecular size marker.

clonal spread. On the other hand, the exact mechanism of resistance to teicoplanin in CoNS strains remains elusive (Biavasco et al., 2000). Although teicoplanin resistance can be reached after exposure to teicoplanin, particularly in strains of *S. haemolyticus* and *S. epidermidis* (Biavasco et al., 2000), the findings of resistance to teicoplanin in *S. haemolyticus*, before the release of the antibiotic to the market (O'Hare and Reynolds, 1992) and in absence of exposure to the drug (Cercenado et al., 1996), suggest that glycopeptide resistance is intrinsic to certain strains within this species. We do not use teicoplanin extensively in our ICU, and only 1 patient in this study had previously received this antibiotic. However, most patients in the study had previously received linezolid. We have observed sporadic teicoplanin-resistant *S. haemolyticus* isolates in our hospital, and our hypothesis is that the LTR-SH clone could have evolved from one of these strains as a result of widespread use of the linezolid in the ICU.

The increase in infections with multidrug-resistant *S. haemolyticus* is likely to become a serious problem in the future given the limited alternative therapeutic options. The frequency with which *S. haemolyticus* with resistance to teicoplanin and linezolid is isolated could easily be underestimated because not all CoNSs are identified to the species level and full antibiotic resistant patterns are rarely determined. Understanding the development and epidemiologic profile of linezolid and teicoplanin resistance is likely to be crucial to controlling this emerging problem. Development of strategies to prevent the emergence of antibiotic resistance (Miller et al., 2008) and a continuous surveillance of antimicrobial susceptibility patterns are necessary to control the emergence of these multidrug-resistant strains.

Acknowledgments

The authors thank Tobin Hellyer for reviewing the manuscript. This was supported by Ministerio de Sanidad y Consumo, Instituto de Salud Carlos III—FEDER, Madrid, Spain, Spanish Network for the Research in Infectious

Diseases (REIPI RD06/0008), Spain, and by Fundación Mutua Madrileña (2007/53), Madrid, Spain.

References

- Barnerman TL (2003) *Staphylococcus, Micrococcus, and other catalase-positive cocci that grow aerobically*. In: *Manual of clinical microbiology*. Murray PR, Baron EJ, Tenover JC, Tenover FC, Eds. (8th ed.). Washington, DC: American Society for Microbiology, pp. 384–404.
- Becker K, Hansen D, Mellmann A, Meier C, Schumann P, Peters G, Von Eiff C (2004) Development and evaluation of a quality-controlled ribosomal sequence database for 16S ribosomal DNA-based identification of *Staphylococcus* species. *J Clin Microbiol* 42:4988–4995.
- Biavasco F, Vignatelli C, Vardilo PE (2000) Glycopeptide resistance in coagulase-negative staphylococci. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 19: 403–417.
- Bikandi J, San Millán R, Rementea A, Garzaiz J (2004) *In silico* analysis of complete bacterial genomes: PCR, AFLP-PCR, and endonuclease restriction. *Bioinformatics* 20:798–799.
- Billos-Klein D, Gutmann L, Bryant D, Bell D, van Huijzen J, Grewal J, Shlaes DM (1996) Peptidoglycan synthesis and structure in *Staphylococcus haemolyticus* expressing increasing levels of resistance to glycopeptide antibiotics. *J Bacteriol* 178:4696–4703.
- Cercenado E, García-León ME, Díaz MD, Sánchez-Camillo C, Catalán P, De Quirós JC, Boum E (1996) Emergence of teicoplanin-resistant coagulase-negative staphylococci. *J Clin Microbiol* 34:1765–1768.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2006) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: sixteenth informational supplement M100-S16. Wayne, PA: CLSI.
- Del Bero Jr VE, John JF, Twitty JA, Lewis JW (1986) Antistaphylococcal activity of teicoplanin, vancomycin, and other antimicrobial agents: the significance of methicillin resistance. *J Infect Dis* 154:349–352.
- Froggatt JW, Johnston JL, Galeto DW, Archer GL (1989) Antimicrobial resistance in nosocomial isolates of *Staphylococcus haemolyticus*. *Antimicrob Agents Chemother* 33:460–466.
- Hong T, Li X, Wang J, Sloan C, Cicogna C (2007) Sequential linezolid-resistant *Staphylococcus epidermidis* isolates with G2576T mutation. *J Clin Microbiol* 45:3277–3280.
- Kelly S, Collins J, Maguire M, Gowing C, Flanagan M, Donnelly M, Murphy PG (2008) An outbreak of colonization with linezolid-resistant *Staphylococcus epidermidis* in an intensive therapy unit. *J Antimicrob Chemother* 61:901–907.
- Marshall SH, Dorosky CJ, Hutton-Thomas R, Salata RA, Rice LB (2002) Gene dosage and linezolid resistance in *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemother* 46:3334–3336.

- Miller K, O'Neill AJ, Wilcox MH, Ingham E, Chopra I (2008) Delayed development of linezolid resistance in *Staphylococcus aureus* following exposure to low levels of antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 52:1940–1944.
- O'Hare MD, Reynolds PE (1992) Novel membrane proteins present in teicoplanin-resistant, vancomycin-sensitive, coagulase-negative *Staphylococcus* spp. *J Antimicrob Chemother* 30:753–768.
- Petoški BA, Adams J, Clarke L, Shitt K, Linden PK, Baxter C, Pascuile AW, Capitano B, Peleg AY, Szabo D, Paterson D (2006) Epidemiological profile of linezolid-resistant coagulase-negative staphylococci. *Clin Infect Dis* 43:165–171.
- Prystowsky J, Siddiqui F, Choway J (2001) Resistance to linezolid: characterization of mutations in rRNA and comparison of their occurrences in vancomycin-resistant enterococci. *Antimicrob Agents Chemother* 45:2154–2156.
- Shinabarger DL (1999) Mechanism of action of oxazolidinone antibacterial agents. *Expert Opin Investig Drugs* 8:1195–2002.
- Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, Swaminathan S (1995) Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol* 33:2233–2239.
- Wilson AP, O'Hare MD, Felmingham D, Griceberg RN (1986) Teicoplanin-resistant coagulase-negative *Staphylococcus*. *Lancet* 2:973.
- Wilson P, Andrews JA, Charlesworth R, Walesby R, Singer M, Furrell DJ, Robbins M (2003) Linezolid resistance in clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 51:186–188.
- Zhu W, Tenover FC, Limor J, Lonsoway D, Prince D, Duanne Jr WM, Patel JB (2007) Use of pyrosequencing to identify point mutations in domain V of 23S rRNA genes of linezolid-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 26:161–165.